

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Guy CAMUS

Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse

SOUTENUES LE 8 AVRIL 1949 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN.

Président : M. PLANTEFOL

Examineurs : MM. { MANGENOT
GAUTHERET

IMPRESSIONS PIERRE ANDRÉ

244, BOULEVARD RASPAIL, PARIS (XIV^e)

1949

FACULTÉ DES SCIENCES

Nom du Candidat : **CAMUS.**

Prénoms : **Guy.**

Date de la soutenance : 8 Avril 1949.

N° d'ordre : Série A. 2260. N° 3131.

CAMUS (Guy). — Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. — Paris, Impr. P. André, 1949. In-8°, iv-199 p., fig.

Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Sér. A. 2260. N° 3131.

CAMUS (Guy). — Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. — Paris, Impr. P. André, 1949. In-8°, iv-199 p., fig.

Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Sér. A. 2260. N° 3131.

CAMUS (Guy). — Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. — Paris, Impr. P. André, 1949. In-8°, iv-199 p., fig.

Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Sér. A. 2260. N° 3131.

CAMUS (Guy). — Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. — Paris, Impr. P. André, 1949. In-8°, iv-199 p., fig.

Th. Sc. Nat. Paris, 1949. Sér. A. 2260. N° 3131.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Guy CAMUS

Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse

SOUTENUES LE 8 AVRIL 1949 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN.

Président : M. PLANTEFOL

Examineurs : MM. { MANGENOT
GAUTHERET

IMPRESSIONS PIERRE ANDRÉ

244, BOULEVARD RASPAIL, PARIS (XIV^e)

1949



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen. A. CHATELET.

PROFESSEURS.

L. BLARINGHEM.	T Botanique.	CHAUDRON	T Chimie appliquée.
G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	WYART	T Minéralogie.
A. DENJOY	T Théorie des Fonctions, et Topologie.	TEISSIER	T Zoologie.
L. LUTAUD	T Géographie physique et géologie dynamique.	MANGENOT	T Biologie végétale.
E. DARMOIS	T Enseignement de Physique.	P. AUGER	T Physique quantique et relativité.
Robert LÉVY	T Physiologie comparée.	MONNIER	Physiologie générale.
Henri VILLAT	T Mécanique des fluides et applications.	PIVETEAU	T Géologie.
Ch. JACOB	T Géologie.	ROCARD	T Physique.
P. PASCAL	T Chimie générale.	H. CARTAN	Calcul différentiel.
M. FRÉCHET	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.	SCHAEFFER	T Physiologie des fonctions.
M ^{me} RAMART-LUCAS	T Chimie organique.	LAFFITTE	Chimie (P. C. B.).
FOCH	T Mécanique physique et expérimentale.	FAVARD	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.
PAUTHENIER	T Electrotechnique générale.	COULOMB	T Physique du globe.
De BROGLIE	T Théories physiques.	M ^{lle} COUSIN	T Biologie animale (P. C. B.).
JOB	T Chimie générale.	CHRÉTIEN	Chimie (P. C. B.).
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.	DRACH	Zoologie.
COMBES	T Physiologie végétale.	KASTLER	Physique.
GARNIER	T Géométrie supérieure.	CHATELET	T Arithmétique et théorie des nombres.
PÉRÈS	T Mécanique rationnelle.	EPHRUSSI	T Génétique.
HACKSPILL	T Chimie minérale.	WURMSER	T Biologie physico-chimique.
LAUGIER	T Physiologie générale.	BAUER	T Chimie-Physique.
TOUSSAINT	T Technique Aéronautique.	RIVIERE	Géologie (P. C. B.).
M. CURIE	T Physique (P. C. B.).	GAUTHERET	Biologie Végétale (P. C. B.).
G. RIBAUD	T Hautes températures.	LUCAS	Physique.
CHAZY	T Mécanique analytique et Mécanique céleste.	MAX MORAND	Physique.
CROZE	T Physique théorique et physique céleste.	APNULF	Optique appliquée.
DUPONT	T Théories chimiques.	A. THOMAS	Evolution des êtres organisés
VALIRON	T Calcul différentiel et Calcul intégral.	SOLEILLET	Physique.
BARRABÉ	T Géologie structurale et géologie appliquée.	FORTIER	Mécanique expérimentale de fluides.
VAVON	T Analyse et mesures chimiques.	DANJON	T Astronomie.
G. DARMOIS	T Mathématiques générales.	FROMAGEOT	Chimie Biologique.
Jacques BOURCART	Géographie physique et Géologie dynamique.	LAPORTE	Physique générale et Radioactivité.
AUBEL	T Chimie biologique.	JANET	Mathématiques générales.
M ^{me} JOLIOT-CURIE.	T Physique générale et Radioactivité.	PETIT	T Biologie maritime.
PLANTEFOL	T Botanique.	QUENEX	T Météorologie et dynamique atmosphérique.
CABANNES	T Recherches physiques.	GALLIEN	Biologie animale (P. C. B.).
GRASSÉ	T Evolution des êtres organisés.	EICHHORN	Biologie végétale (P. C. B.).
PRÉVOST	T Chimie organique.	DE CUGNAC	Biologie végétale (P. C. B.).
BOULIGAND	T Application de l'analyse à la Géométrie.	LAVAL	Physique (P. C. B.).
		M ^{lle} CAUCHOIS	Chimie-Physique.
		THELLIER	Physique du Globe.
		AUDUBERT	Electrochimie.
		L'HÉRITIER	Génétique.
		PONCIN	Mécanique des fluides.
		THIRY	T Mécanique appliquée.
		DURREIL	Mathématiques générales.
		QUEL'Y	Chimie (P. C. B.).

Secrétaire. Ch. MONIER.

INTRODUCTION

Les Biologistes savent depuis longtemps que les bourgeons et les feuilles exercent un rôle fondamental sur le développement de la plante. Des recherches classiques ont établi que tout bourgeon en voie de développement inhibe la croissance des ébauches foliaires situées au-dessous de lui ; la ramification et l'élongation des méristèmes radiculaires dépendent aussi de l'activité des bourgeons ; il en est enfin de même de l'accroissement en épaisseur de la tige. Les principaux phénomènes d'organogénèse sont donc dirigés par les points végétatifs caulinaires. L'analyse de cette action a montré qu'elle s'exerce généralement dans une direction privilégiée, définie par le sens feuille-racine.

De nombreuses théories ont été proposées pour expliquer ces phénomènes de corrélation. Les plus solides supposent que les bourgeons interviendraient en sécrétant un certain nombre de facteurs morphogènes dont la circulation serait polarisée.

Or, jusqu'à maintenant, l'existence de ces facteurs n'a pu être mise en évidence que par des études physiologiques qui ne pénétraient pas vraiment dans le détail des phénomènes de morphogénèse. Notamment, ces études n'ont pas permis de savoir si les influences multiples qu'exercent les bourgeons ne seraient pas, en réalité, le reflet de phénomènes d'histogénèse, car ces phénomènes primitifs n'ont guère été considérés. En effet, on s'est borné à observer l'action qu'exercent les bourgeons sur la zone génératrice d'organes pourvus de pousses feuillées, formées spontanément ou greffées. Les études anatomiques effectuées de cette manière étaient difficilement interprétables, car on observait ainsi les réactions de tissus capables de proliférer d'eux-mêmes, ce qui empêchait de distinguer nettement les phénomènes spontanés des réactions provoquées par les bourgeons.

Nous avons pensé qu'en utilisant la technique de culture des tissus végétaux, il serait possible d'aborder d'une manière beaucoup plus large l'étude des phénomènes d'histogénèse régis par les points végétatifs. On pouvait envisager, par exemple, d'étudier les remaniements tissulaires éventuellement déterminés par des bourgeons néoformés sur des parenchymes divers, ou encore, de faire agir des pousses feuillées sur tel ou tel tissu, et de procéder, par conséquent, à une véritable analyse expérimentale de leur action histogène.

On pouvait aussi songer à vérifier la théorie classique selon laquelle

les bourgeons élaboreraient un certain nombre de substances spécifiques, dont l'une, au moins, serait douée de propriétés histogènes ; on pouvait rechercher si ce facteur histogène serait capable ou non de traverser un film perméable.

Enfin, on pouvait imaginer qu'en utilisant la technique de culture des tissus, il serait possible d'obtenir des renseignements sur la nature des facteurs sécrétés par les bourgeons, en comparant, par exemple, les modifications histologiques induites éventuellement par ceux-ci, à celles que provoqueraient des substances excito-formatrices synthétiques. Telles sont les idées qui ont guidé notre travail.

Au cours de nos recherches, nous avons pu apprécier, à maintes reprises, l'étendue des possibilités d'expérimentation permises par la méthode des cultures *in vitro* ; aussi, cette technique nous a-t-elle conduit à mettre en évidence des faits nouveaux, qui précisent et complètent les résultats de nos devanciers, et dont l'exposé fera l'objet du présent mémoire.

*
* *

Notre mémoire débutera par un exposé historique, dans lequel nous rappellerons tout d'abord les résultats les plus importants concernant les phénomènes généraux de la polarité du développement, ainsi que les hypothèses les plus marquantes relatives au mécanisme de la polarité végétale. Puis, nous nous attacherons plus particulièrement au rôle joué par les bourgeons dans les processus de croissance en épaisseur des axes, considération qui a inspiré la majeure partie de notre travail.

Nous résumerons ensuite les techniques que nous avons utilisées, cultures de tissus, réalisation de greffes *in vitro*, méthodes histologiques, etc...

Nous pourrons alors aborder l'exposé de nos recherches personnelles, que nous diviserons en trois parties :

— Dans une première partie, nous envisagerons quelques expériences de physiologie pure, ayant trait aux problèmes de l'inhibition et de la rhizogénèse.

— La deuxième partie sera consacrée, d'abord à l'étude de l'action histogène exercée par des bourgeons apparus spontanément sur des fragments de divers végétaux cultivés *in vitro*, puis à l'examen des remaniements induits par des bourgeons greffés. Nous montrerons, enfin, que l'action histogène des bourgeons s'exerce par voie humorale.

— Dans la troisième partie, nous essayerons de caractériser les substances histogènes sécrétées par les bourgeons, et nous envisagerons la nature du facteur des corrélations d'inhibition.

Pour terminer, nous comparerons nos résultats à ceux de nos devanciers, puis nous formulerons notre conception personnelle du rôle des bourgeons dans les processus de morphogénèse.

*
* *

Ce travail fut entrepris à l'instigation de notre Maître, M. R.-J. GAUTHERET, Professeur à la Sorbonne, qui, après nous avoir accueilli dans son laboratoire, a suivi pas à pas nos recherches, en nous prodiguant ses conseils, et en nous faisant profiter de l'incalculable avantage de sa grande expérience et de sa haute compétence. Son inlassable bienveillance, tant dans les domaines scientifique que matériel, nous fut extrêmement précieuse, et nous n'oublierons pas la sollicitude qu'il nous a toujours manifestée. Nous avons contracté envers lui une lourde dette de reconnaissance, et nous le prions de trouver ici l'expression de notre très profonde gratitude.

M. L. PLANTEFOL, Professeur à la Sorbonne, nous a toujours témoigné une très grande bienveillance, et nous le remercions de l'intérêt qu'il a porté à nos recherches ; d'autre part, celles-ci ne purent être menées à bonne fin que grâce au geste généreux qu'il eut à notre égard en 1944. Aujourd'hui encore, M. PLANTEFOL nous fait l'honneur de présider la soutenance de notre thèse ; qu'il veuille nous permettre de lui renouveler l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

Nous avons été profondément touché par le bienveillant accueil que nous a toujours réservé M. G. MANGENOT, Professeur à la Sorbonne. Il s'est constamment intéressé à nos travaux, et nous ne saurions assez l'en remercier.

M. J. MAGROU, Membre de l'Institut, nous a permis de continuer nos recherches, en acceptant d'abriter nos cultures dans son laboratoire, à une époque où la pénurie d'électricité nous aurait contraint à une inaction totale. En outre, il a bien voulu présenter nos notes à l'Académie et nous le prions de trouver ici l'expression de notre gratitude.

Nous nous permettons d'exprimer toute notre reconnaissance à Mme G. HUREL-PY, Chargée de Cours à la Sorbonne, qui nous a prodigué tant de fois ses encouragements et dont les conseils nous ont été d'un grand secours.

Nous remercions vivement M. GUINET, Chef de culture au Muséum, qui a eu l'obligeance de nous procurer une partie du matériel nécessaire à nos recherches. Celles-ci, d'ailleurs, ne purent être commencées que grâce aux subventions qui nous furent accordées par le Conseil de l'Université et le Centre National de la Recherche Scientifique, à qui il nous est agréable d'exprimer notre reconnaissance.

Nous tenons enfin à exprimer notre cordiale sympathie à tous ceux, camarades, collègues ou amis, qui nous ont obligé au cours de ce travail, et dont l'amitié nous a été si précieuse.

HISTORIQUE

Nous ne passerons pas en revue la totalité des mémoires concernant le rôle exercé par les bourgeons dans le développement de la plante, car leur examen dépasserait le cadre des recherches que nous avons effectuées.

Nous nous bornerons à rappeler brièvement les hypothèses les plus importantes formulées à l'égard du mécanisme de la polarité végétale, hypothèses dont la connaissance nous sera nécessaire pour l'interprétation des recherches que nous avons faites sur les corrélations d'inhibition et la rhizogénèse (1). Cet exposé fera l'objet du premier chapitre.

Dans le deuxième chapitre, nous examinerons, plus en détail, les données bibliographiques relatives aux processus d'histogénèse provoqués par les bourgeons. Ceci nous amènera à résumer les travaux qui mentionnent une relation entre le fonctionnement des zones génératrices et le développement foliaire, puis à évoquer les différentes hypothèses imaginées par les chercheurs pour expliquer ces phénomènes.

CHAPITRE I

PRINCIPALES THEORIES CONCERNANT LE MECANISME DE LA POLARITE VEGETALE

La polarité des plantes se manifeste par des phénomènes très variés, tels que la localisation des ébauches foliaires et radiculaires, la répartition des charges électriques, la croissance dissymétrique de fragments d'organes isolés ; elle a attiré l'attention des Botanistes dès le dix-huitième siècle, et, depuis, elle a suscité d'innombrables travaux.

La première théorie cohérente, proposée pour expliquer son mécanisme, est due à SACHS (1880-82). Ce savant imagine que le développement polarisé d'ébauches est conditionné par l'existence de substances spécifiques,

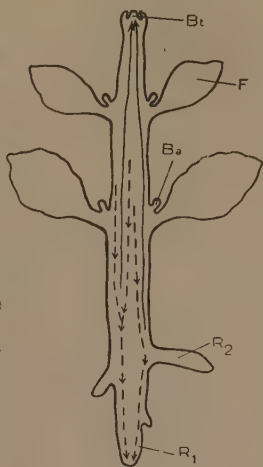
(1) Nous renvoyons le lecteur désireux de plus amples détails aux mémoires publiés par BLOCH en 1943 et par GAUTHERET en 1944.

capables de provoquer la formation d'organes. Ces substances circuleraient dans des directions privilégiées, et s'accumuleraient en certains points, déterminant ainsi l'apparition de racines, de bourgeons, etc... (fig. 1).

Fig. 1. — Représentation de la théorie de SACHS (d'après GAUTHERET).

La plante renfermerait diverses substances organo-formatrices circulant dans des directions privilégiées ; certaines, douées de propriétés caulogènes, seraient transportées électivement dans le sens racine-feuille (parcours en traits pleins) et s'accumuleraient dans la région supérieure de la plante. D'autres, douées de propriétés rhizogènes, seraient transportées dans le sens feuille-racine, et s'accumuleraient dans la région inférieure de la plante, provoquant le développement de l'appareil racinaire (parcours en pointillé). La polarité du développement résulterait donc du transport polarisé de ces substances formatrices.

Bt : Bourgeon terminal, Ba : Bourgeon axillaire, F : Feuille, R₁ : Racine principale, R₂ : Racine secondaire.



Cette ingénieuse théorie présente malheureusement un caractère presque entièrement hypothétique, et les idées de GÆBEL vont la reléguer au second plan pendant de nombreuses années.

GÆBEL, étudiant de façon approfondie les processus de régénération de divers végétaux, ainsi que les corrélations d'inhibition qui avaient été entrevues par TITTMANN et ERRERA, estime que la polarité d'un fragment d'organe ne fait qu'exprimer une polarité existant déjà dans la plante entière. Celle-ci résulterait, d'après ce savant, d'une répartition inégale des substances nutritives contenues dans le végétal ; cette répartition inégale serait due à l'activité de certains méristèmes en voie de développement actif qui attireraient à eux, de façon privilégiée, les substances nutritives. Cette conception peut être illustrée de la manière suivante : si l'on isole un tronçon de tige, toutes les ébauches méristématiques qu'il renferme se développent. Mais les ébauches de bourgeons les plus voisines de la région apicale du fragment sont particulièrement vigoureuses, si bien qu'elles font venir à elles les substances plastiques propres à leur développement. Les bourgeons localisés dans les régions inférieures seraient alors inhibés, par suite d'une déficience momentanée en éléments nutritifs, provoquée par les « centres d'attraction » apicaux.

Divers auteurs, et en particulier JANSE, un disciple de GÆBEL, apportent ultérieurement de légères améliorations à cette théorie, qui ne permet pas d'interpréter tous les résultats des expérimentateurs, comme, par exemple, le développement de fragments végétaux dépourvus d'ébauches préexistantes.

Cependant, la théorie des centres d'attraction ne tarde pas à être battue en brèche par des chercheurs distingués, tels que MAC CALLUM, SIMON..., pour lesquels les corrélations d'inhibition ne mettent pas en cause de simples déficiences locales en matières nutritives, mais une action antagoniste positive, s'exerçant exclusivement dans le sens feuille-racine. A la suite des recherches de ces auteurs, le problème de la polarité semble très obscur ; en effet, rien ne démontre l'existence des substances formatrices prévues par SACHS, et la théorie de GÖEBEL, basée sur des corrélations organiques, semble difficilement soutenable.

C'est à ce moment que paraissent les premiers résultats de LÖEB, et pendant 10 ans, ce savant effectue un travail considérable, s'attachant à tous les aspects des processus de régénération du *Bryophyllum calycinum*.

En 1917, LÖEB, après avoir tenté, en vain, d'expliquer ses résultats par la théorie de GÖEBEL, propose une théorie humorale de la polarité, qui peut se résumer ainsi : les bourgeons et les feuilles sécrètent un ensemble de substances spécifiques, qui, circulant dans le sens feuille-racine, provoquent la croissance des racines, et inhibent celle des bourgeons des régions inférieures (fig. 2).

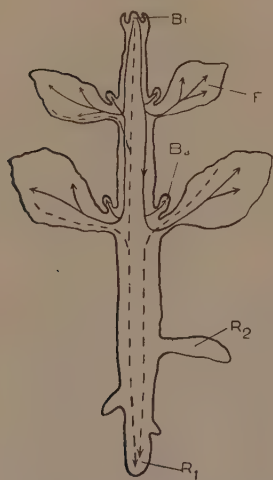


Fig. 2. — Représentation de la théorie proposée par LÖEB en 1917 (d'après GAUTHERET).

Les bourgeons en voie de croissance et les feuilles sécrètent un système d'hormones circulant électivement dans le sens feuille-racine. Certaines de ces hormones provoquent le développement des racines (lignes pointillées), tandis que d'autres inhibent la croissance des bourgeons (traits pleins). La polarité du développement résulterait de la circulation polarisée de ces hormones.

Bt : Bourgeon terminal, Ba : Bourgeon axillaire, F : Feuille, R : Racine principale, R₂ : Racine secondaire.

LÖEB ne conserve pas cette théorie pendant bien longtemps. En effet, diverses observations qu'il effectue sur la transmission des phénomènes d'inhibition dans le sens racine-feuille le font revenir à la théorie de GÖEBEL, puis à une théorie confuse (1926), basée, elle aussi, sur la migration d'éléments plastiques, et qui ne tarde pas à être vivement critiquée.

Entre 1917 et 1926, de nombreux travaux paraissent encore sur le problème de la polarité, mais aucun d'eux n'apporte de théorie vraiment originale. Signalons simplement les belles recherches de VAN DER LEK (1925), qui établit expérimentalement l'existence d'une relation étroite entre la

croissance foliaire et la néoformation des racines. Ce savant interprète ses résultats en admettant, comme LÖB en 1917, que les bourgeons et les feuilles synthétisent une hormone rhizogène, circulant au sein des tissus dans le sens feuille-racine. En 1925, également, SNOW commence ses importantes recherches sur les corrélations d'inhibition, et démontre qu'il existe un facteur d'inhibition, prenant naissance dans les régions apicales des plantules.

En 1928, la découverte par WENT de l'hormone de croissance, dont l'existence était soupçonnée depuis longtemps, va permettre un nouvel essor des recherches poursuivies sur la polarité.

A partir de ce moment, toutes les théories vont faire état de substances circulant d'une manière polarisée : certaines d'entre elles se bornent à faire intervenir l'auxine dans les processus de morphogénèse, mais d'autres supposent l'existence de facteurs spécifiques qui agissent, soit dans la rhizogénèse, soit dans l'inhibition des bourgeons. Ces phénomènes sont, en général, considérés séparément par les chercheurs, et nous allons, à présent, scinder en deux l'histoire, à cause de cette tendance.

Nous envisagerons donc successivement le problème de la rhizogénèse, puis celui des corrélations d'inhibition, et nous terminerons en exposant deux grandes théories générales, celle de WENT et celle de GAUTHERET, sur le mécanisme de la polarité.

Reprenant les observations de VAN DER LEK, BOUILLENNE et WENT réalisent un grand progrès dans la question des substances formatrices. Ils publient, en 1933, leur célèbre mémoire sur la formation des racines, qui est due, d'après eux, à un facteur déterminé, auquel ils donnent le nom de rhizocaline. La rhizocaline synthétisée dans les feuilles, circulerait uniquement dans le sens feuille-racine, pour s'accumuler dans la région proximale des boutures, ou elle déterminerait l'édification de méristèmes radiculaires.

La nature de la rhizocaline a suscité de nombreuses controverses. BOUILLENNE et WENT avaient montré qu'il n'y a rien de commun entre la rhizocaline et les substances plastiques normales de la plante. Mais la découverte par KÖGL de l'acide indole-acétique, ou hétéro-auxine, et des propriétés rhizogènes de ce corps, fait bientôt penser à THIMANN et à WENT que la rhizocaline n'est autre que l'auxine, et les Biologistes tendent alors à attribuer à l'auxine un rôle exclusif dans les processus de polarité. Mais cette conviction ne dure pas.

Entre 1935 et 1938 BOUILLENNE démontre qu'il n'y a pas de relation stricte entre le nombre de racines apparues sur des boutures, et la teneur en auxine de celles-ci. Il en conclut que l'auxine n'agirait dans la rhizogénèse que de façon indirecte, en favorisant la multiplication cellulaire, et ses résultats sont bientôt confirmés par COOPER.

De même, les résultats de WENT et THIMANN, les observations de GAUTHERET sur la culture des tissus végétaux, semblent montrer que l'auxine

est peut-être un des facteurs de la rhizogénèse, mais qu'elle n'est pas le seul. Dès lors, le point central du problème à résoudre est de savoir quels sont les rôles respectifs des auxines et de la rhizocaline, dans les phénomènes de la rhizogénèse.

Les recherches effectuées par WENT, en 1936 et 1938, l'amènent à penser que l'auxine contrôle le transport de la rhizocaline, et qu'elle oriente ce transport dans un sens, ou dans l'autre, selon sa concentration. Mais cette hypothèse, qui suppose que la polarité peut être inversée par de fortes concentrations d'auxine ou d'hétéro-auxine, est critiquée par GAUTHERET (1944).

Par la suite, la découverte par ZIMMERMAN et ses collaborateurs de l'action rhizogène intense qu'exercent de nombreux composés synthétiques, tels que les acides du groupe naphthoxy-acétique, phénoxy-acétique, etc..., obscurcit le problème véritable de l'organogénèse radiculaire. Beaucoup de chercheurs considèrent alors comme improbable l'existence d'une rhizocaline. Leur opinion est confirmée, sur des bases différentes, par les résultats de VAN OVERBEEK et de ses collaborateurs (1944-45, 1945, 1946) qui montrent que des substances non spécifiques, comme le saccharose en combinaison avec de l'arginine ou du sulfate d'ammonium, peuvent modifier profondément les processus de rhizogénèse manifestés par diverses variétés d'*Hibiscus* (1).

Mais en 1947, BOUILLENNE parvient à mettre en évidence deux états successifs de la rhizocaline chez les plantes supérieures, en s'appuyant sur l'expérience suivante :

Quand on traite des hypocotyles d'*Impatiens balsamina* par de l'hétéro-auxine à des concentrations variant entre 10^{-8} et 10^{-5} , ceux-ci donnent naissance à un certain nombre de racines ; si l'on fait agir à nouveau de l'acide indole-acétique sur ces mêmes boutures, on constate que le nombre des méristèmes radiculaires néoformés n'augmente pas. Ce premier résultat permet de penser que l'hétéro-auxine mobilise, lors de sa première application, toute la rhizocaline contenue dans l'hypocotyle.

Cependant, si l'on sectionne ensuite un de ces hypocotyles ne contenant plus de facteur mobile, et qu'on plonge les sections dans un milieu nutritif, additionné ou non d'hétéro-auxine, les surfaces de section produisent à leur tour des racines, qui s'accroissent normalement. Cette deuxième observation montre qu'il existe dans les boutures, à côté d'un facteur mobile, une rhizocaline fixée, qui n'est pas drainée ou inactivée par l'hétéro-auxine.

Ces résultats, ainsi que ceux de son collaborateur NOEL, conduisent

(1) Remarquons, toutefois, que le comportement de l'*Hibiscus* ne peut être généralisé. GALSTON (1948), au cours de ses recherches sur l'enracinement de tiges d'*Asparagus* cultivées *in vitro*, ne confirme pas les résultats de VAN OVERBEEK, et conclut qu'un matériel autre que l'auxine, synthétisé à la lumière, est indispensable pour l'initiation des méristèmes radiculaires.

BOUILLENNE à conclure que les feuilles synthétisent, à la lumière, de la rhizocaline mobile qui se fixerait ultérieurement, en présence d'auxine, dans certaines cellules à caractère péricyclique, sous l'influence d'un enzyme spécial distribué génétiquement. Cette séduisante théorie, qui permet d'expliquer les résultats souvent contradictoires obtenus par les auteurs, ouvre une voie nouvelle aux recherches sur la rhizogénèse.

Nous allons envisager maintenant la question des corrélations d'inhibition.

Nous avons vu que, jusqu'en 1928, les chercheurs qui ont étudié ce problème se partagent en deux catégories :

1° Ceux qui pensent, avec GÖBEL, que les régions en voie de croissance active détournent à leur profit les éléments plastiques nécessaires à leur édification. Les autres régions, privées de ces mêmes substances, seraient alors inhibées.

2° Ceux qui estiment, d'accord avec la théorie proposée par LÖB en 1917, que les phénomènes d'antagonisme sont dus à une action inhibitrice positive des régions en voie de croissance, par émission d'une substance freinatrice, sur la nature de laquelle on n'a aucun renseignement.

Les hypothèses formulées par les auteurs qui reprennent ultérieurement ce problème, peuvent encore être réparties dans l'un de ces deux groupes :

1° WENT (1936-1939), se rattachant à la théorie des « centres d'attraction » de GÖBEL, suppose que le développement de la tige exige l'intervention d'auxine et d'un facteur spécifique, la caulocaline ; cette dernière substance, synthétisée dans les racines, est attirée par les régions qui produisent de l'auxine et parvient au bourgeon terminal où elle est utilisée. L'inhibition des bourgeons axillaires est due à ce que, ne produisant pas d'auxine, ils ne peuvent utiliser la caulocaline. Toutefois, GAUTHERET et PREVOT font remarquer que l'on peut obtenir, dans certains cas, le développement de bourgeons sans qu'ils soient enracinés, et ces critiques rendent fort improbable l'existence d'une hormone caulogène.

Le travail de FERMAN (1938) qui présente un caractère moins hypothétique que celui de WENT, suggère que l'inhibition des bourgeons serait due à l'attraction privilégiée, exercée par les régions apicales, d'un précurseur de l'auxine ; FERMAN constate, en effet, que les bourgeons inhibés ne renferment que des traces insignifiantes de substances de croissance, alors que les ébauches qui se développent en élaborent de grandes quantités.

2° Les autres auteurs sont tous partisans de la sécrétion par les bourgeons d'une substance inhibitrice, mais ne s'accordent pas au sujet de la nature du facteur responsable.

THIMANN et SKOOG, en 1934, pensent que l'auxine seule agit dans les processus de corrélation, car ils constatent que de l'hétéro-auxine, appliquée au sommet d'un épicotyle décapité de Fève, inhibe le développement des bourgeons axillaires. Mais cette théorie de l'inhibition directe ne tarde pas à être critiquée par SNOW et LE FANU. C'est ainsi que SNOW réalise une

série d'expériences très démonstratives qui montrent que le facteur des corrélations peut se déplacer dans toutes les directions au sein d'une plante de Fève judicieusement mutilée. Donc, l'auxine ne peut pas être le facteur direct de l'inhibition puisque, en général, son transport est strictement polarisé ; cette substance provoquerait uniquement la croissance cambiale, et c'est au cours de sa prolifération que le cambium donnerait naissance à un inhibiteur. Toutefois, MICHENER (1942) et SMITH (1945) expérimentant l'un sur la Pomme de terre, l'autre sur le Guayule, confirment l'opinion de THIMANN. SMITH, en particulier, pense que l'acide indole-acétique serait la véritable auxine du Guayule, et que cette substance, élaborée par le bourgeon terminal, serait responsable de l'inhibition des bourgeons axillaires.

S'opposant à l'opinion de leurs prédécesseurs qui font jouer un rôle à l'auxine dans les processus de corrélation, PREVOT et GAUTHERET estiment que les bourgeons sécrètent un facteur inhibiteur particulier, et que celui-ci n'a aucun rapport avec l'auxine. C'est ainsi que PREVOT montre que le facteur inhibiteur ne diffuse pas dans la gélose et ne peut circuler dans le végétal qu'au sein des formations cribro-vasculaires ; comme ces propriétés sont bien différentes de celles de l'auxine qui, en particulier, diffuse dans la gélose, il en conclut à l'existence d'un facteur antagoniste spécifique. GAUTHERET, à la suite de ses recherches sur l'Endive, adopte, dans l'ensemble, l'opinion de PREVOT. Mais, en outre, il admet que dans certains cas, l'inhibition peut s'exercer dans le sens racine-feuille, par suite d'un forçage du mécanisme normal de circulation de l'agent inhibiteur. Un tel

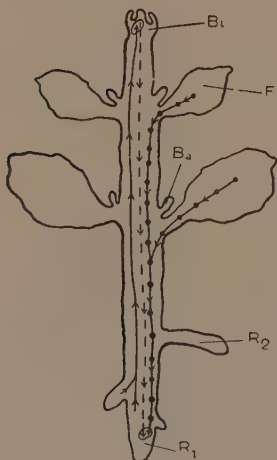


Fig. 3. — Schéma de la polarité selon les idées de WENT (d'après GAUTHERET).

Le bourgeon terminal (Bt) élabore de l'auxine qui s'écoule vers les racines (R_1 , R_2). La rhizocaline qui prend naissance dans les feuilles (F) se déplace dans la même direction. Les deux hormones s'accumulent dans l'appareil racinaire et provoquent le développement de celui-ci.

Les racines sont le lieu de formation d'une troisième hormone, la caulocaline, qui, circulant dans le sens racine-feuille, s'accumule dans le bourgeon terminal, et, associée à l'auxine, provoque son développement.

forçage est d'ailleurs démontré par cet auteur dans le cas des hétéro-auxines. Tel est l'état actuel des recherches sur les corrélations d'inhibition.

Après avoir considéré les expériences ayant eu pour but de mettre en évidence l'intervention d'hormones dans la polarité végétale, nous allons

examiner deux théories suscitées par ces études sur les corrélations d'inhibition et la rhizogénèse. La plus ancienne est celle de WENT (1936, 1938 et 1939). Ce savant imagine que les régions supérieures de la plante élaborent de l'auxine qui s'écoule vers les racines sous l'action du champ électrique qui est établi le long de la plante. La rhizocaline synthétisée par les feuilles, suivrait ce flot descendant, s'accumulerait dans l'appareil racinaire qui se ramifierait sous l'action des deux hormones. La caulocaline, qui prend naissance dans les racines serait, au contraire, attirée par les points où s'élabore l'auxine, et s'élèverait jusqu'au bourgeon terminal, provoquant ainsi l'allongement de la tige (fig. 3). Enfin, le développement des feuilles serait assuré par une autre hormone, la phyllocaline. Cette théorie, presque entièrement hypothétique, permet d'interpréter le développement normal de la plante, mais n'explique toutefois pas les processus de régénération manifestés par un fragment d'organe dépourvu d'ébauches préexistantes.

La théorie que propose GAUTHERET en 1944, à la suite de recherches étendues sur la polarité de divers tissus cultivés *in vitro*, s'apparente à celle formulée par LÖB en 1917. Il estime que les tissus renferment un ensemble de phytohormones, dont la nature est inconnue et qui, par leur circulation polarisée, provoqueraient la polarité du développement de la plante. Ces phytohormones seraient élaborées par les bourgeons en voie de croissance : certaines seraient douées de propriétés rhizogènes, d'autres posséderaient la faculté d'inhiber le développement des bourgeons, d'autres enfin seraient capables de déterminer la formation de zones génératrices libéro-ligneuses. Cette théorie permet d'interpréter, non seulement le développement normal du végétal, mais aussi celui de fragments homogènes. En effet, au moment de l'isolement des tissus, les hormones, primitivement réparties d'une manière uniforme, s'accumuleraient dans la région racinaire de l'explantat. A la faveur d'une activation cellulaire provoquée par le prélèvement, les tissus régénéreraient des bourgeons. Ceux qui sont localisés sur l'extrémité apicale, n'étant plus soumis à l'action du facteur d'inhibition, se développeraient en pousses feuillées, et élaboreraient à nouveau des hormones. Celles-ci s'accumuleraient dans la région proximale des explantats, renforçant l'inhibition des bourgeons apparus à ce niveau, et provoquant la formation de racines.

*
**

Il ressort de cette brève analyse, que la polarité végétale doit résulter d'un transport de substances morphogènes. Mais, les seules études physiologiques n'ont pas permis de démontrer l'existence de ces facteurs de nature humorale, et certains auteurs se sont tournés vers d'autres disciplines pour obtenir les preuves qui leur manquaient. Ils ont notamment

recherché si des études anatomiques ne leur permettraient pas d'obtenir la certitude de l'existence des hormones morphogènes. Aussi, après avoir considéré d'une manière générale le problème de la polarité, allons-nous examiner maintenant les travaux anatomiques qui ont tenté de mettre en évidence l'influence histogène des bourgeons. Nous insisterons sur cette deuxième partie de notre historique, étant donné que nos recherches essentielles ont porté sur les processus d'histogénèse.

CHAPITRE II

ROLE DES BOURGEONS DANS LES PROCESSUS D'HISTOGENESE

C'est au début du dix-huitième siècle que les Botanistes ont commencé à soupçonner le rôle fondamental joué par les bourgeons dans les processus d'histogénèse. Certaines observations ont, en effet, montré dès cette époque qu'il existe une relation entre la croissance des feuilles et la prolifération cambiale. Ce phénomène a été expliqué de différentes façons.

La plus ancienne théorie, émise par LA HIRE en 1708, reprise plus tard par DARWIN et DU PETIT THOUARS, est exposée avec le maximum de netteté dans les publications de GAUDICHAUD en 1841. Ces auteurs considèrent chaque feuille ou chaque bourgeon comme une individualité qui, par sa « germination », enverrait des racines à travers la plante mère. Ces racines se fraieraient un passage entre le bois et l'écorce, et par leur accroissement longitudinal, elles provoqueraient alors une prolifération cambiale localisée. Cette théorie des « bourgeons-racines » ou « phytons » a suscité d'innombrables discussions sans grande valeur scientifique.

Le premier mémoire vraiment positif ayant trait à cette question est publié en 1844 par von MOHL, et nous allons examiner brièvement son travail, qui est le point de départ de toutes les expérimentations ultérieures.

Mois après mois, von MOHL mesure l'augmentation de diamètre du tronc de différents arbres, depuis l'ouverture des bourgeons jusqu'à l'arrêt de la formation des feuilles. Il constate que, pour certaines espèces (*Pavia*, *Gleditschia*, *Gymnocladus*), l'accroissement du tronc est maximum après l'arrêt de la croissance foliaire, alors que pour d'autres espèces (*Populus*, *Tilia*), le début de la prolifération cambiale a lieu simultanément à l'ouverture des bourgeons. Von MOHL tire alors de ces différences de comportement un argument décisif contre la théorie de DU PETIT THOUARS, et il émet l'hypothèse que l'accroissement en épaisseur du tronc ne dépend pas du développement des bourgeons, mais de l'activité physiologique des feuilles, qui produisent des substances nutritives servant à l'élaboration de nouvelles couches de bois. Il explique, d'autre part, la concordance entre la croissance foliaire et la prolifération cambiale par l'utilisation de l'amidon de réserve, estimant trop faible l'activité assimilatrice des jeunes feuilles.

Ces quelques arguments paraissent suffisants pour nier toute influence du développement foliaire sur la croissance en épaisseur, jusqu'au moment

où TH. HARTIG publie les premiers résultats des recherches qu'il effectue sur ce sujet (1853). Entre 1858 et 1863, paraissent quatre nouveaux articles, et ce savant qui, le premier, introduit l'expérimentation dans ce domaine, résume toutes ses conceptions dans un important ouvrage édité en 1878 à Berlin. Pratiquant sur divers végétaux ligneux des élagages et des effeuillages totaux ou partiels, TH. HARTIG montre que les feuilles agissent de façon déterminante sur la prolifération cambiale. Il en déduit une théorie très confuse, qui considère que le développement foliaire provoquerait des déplacements de substances plastiques, s'effectuant dans des directions variables selon les saisons. Ces migrations d'éléments nutritifs détermineraient, selon lui, la croissance de la zone génératrice. Cette théorie, qui représente un progrès sur les idées de VON MOHL, puisqu'elle tient compte du rôle joué par la croissance foliaire, n'est cependant pas considérée comme satisfaisante pendant bien longtemps.

Vers la même époque, diverses recherches de moindre importance viennent apporter des résultats contradictoires, liés sans doute à des conditions expérimentales parfois défectueuses. En 1866, MEEHAN, reprenant les techniques de mensuration périodique de VON MOHL, critique les résultats de cet auteur en constatant que l'accroissement de diamètre du tronc de *Populus monilifera* atteint son maximum aux mois de juin et juillet. En 1878, NORDLINGER signale que des arbres complètement élagués en hiver ne présentent, durant l'été suivant, qu'une croissance en épaisseur très faible, ou nulle. N. J. MULLER (1875), expérimentant sur des Pins, remarque que la prolifération cambiale commence dans le tronc, pour apparaître ensuite dans les branches, puis dans les rameaux de second ordre. Ces constatations seront confirmées en 1881 par Russov.

En 1876, HUGO DE VRIES, étudiant des développements anormaux de pousses feuillées sur une hampe florale de *Pelargonium* et sur un tubercule de Pomme de terre en germination, conclut de ses travaux que l'origine de l'activité cambiale doit être recherchée dans des déplacements de substances plastiques dans le xylème et les tubes criblés. Il reprend alors, en la modifiant légèrement, la théorie de TH. HARTIG.

A partir de 1885, R. HARTIG étudie la prolifération cambiale sur des Hêtres, des Pins, des Sapins ayant subi un élagage total au cours de l'hiver. Contrairement à ses prédécesseurs, il observe la formation nette d'un nouvel anneau de croissance, et une utilisation complète des réserves du végétal expérimenté. Il est vraisemblable, dans ce cas, qu'il s'est développé des bourgeons dormants sur les exemplaires utilisés par R. HARTIG, ce qui n'a rien de surprenant, car il opérait sur des sujets âgés, hauts de vingt mètres et plus, ce qui ne lui permettait pas de contrôler périodiquement leur état avec une rigueur suffisante. En outre, résultat qui sera infirmé par la suite, cet auteur prétend que l'accroissement en épaisseur se propage le long de la zone génératrice, dans le sens racine-feuille, ce qui rejoint les résultats obtenus par MULLER et par Russov.

Toutes ces recherches suscitent beaucoup d'intérêt chez les Botanistes, et des expérimentateurs distingués s'attachent à cette question du rôle exercé par le développement foliaire. En 1891, STRASBURGER constate que l'activité cambiale commence dans les jeunes pousses pour se propager ensuite vers le bas. Malheureusement, ce chercheur ne tire aucune conclusion de ses résultats.

La même année, Jost publie la première partie de remarquables recherches, dont les résultats vont modifier profondément les idées sur la relation existant entre le développement des bourgeons et la prolifération cambiale. Puis en 1892 et 1893, il expose longuement et clairement sa théorie personnelle qui fait date dans l'histoire de cette question. En raison de l'intérêt particulier de ces travaux, nous allons en parler avec quelques détails.

Jost reprend avec une technique expérimentale nouvelle et rigoureuse, les études contradictoires réalisées par ses prédécesseurs et révisé, à l'aide de ses propres observations, leurs interprétations plus ou moins cohérentes.

Ses recherches principales portent sur de jeunes plantules de Haricot, très faciles à mutiler, et dont la structure histologique est simple, mais il complète ses résultats en travaillant aussi sur les arbres utilisés par ses devanciers (1) ; les observations qu'il effectue sur ces deux types de matériel sont parfaitement concordantes.

Au cours d'une première série d'expériences, les épicotyles et les bourgeons axillaires cotylédonaire de jeunes plantules de *Phaseolus multiflorus* sont éliminés peu après le début de la germination. Des coupes, effectuées dans l'hypocotyle restant en liaison avec les cotylédons, permettent de constater qu'il ne s'est différencié que très peu de faisceaux conducteurs, et que ceux-ci sont rudimentaires ; les observations sont identiques, que cette expérience ait lieu à la lumière ou à l'obscurité. Ceci permet à Jost de conclure que le transport des substances nutritives provenant des cotylédons est incapable de provoquer la formation de faisceaux conducteurs.

Pour préciser les facteurs de cette formation, Jost effectue alors une autre expérience sur une plantule intacte : il sectionne transversalement, dans l'épicotyle, les faisceaux conducteurs situés en-dessous d'une feuille, et constate que la partie supérieure de cet épicotyle, en liaison avec la feuille, présente une croissance en épaisseur normale, alors que la partie inférieure, séparée de la feuille par la section, ne possède que quelques faisceaux rudimentaires. Ce résultat montre que le développement foliaire exerce une action excitante propre sur la prolifération cambiale.

Toutefois, une objection se présente ; Jost observe accessoirement qu'une blessure profonde, une section complète par exemple, est suscep-

(1) Ces recherches sont effectuées sur : *Pinus laricio*, *Corylus avellana*, *Aesculus hippocastanum*, *Populus nigra*, *Betula alba*, *Quercus pedunculata*, *Sambucus nigra*, *Pinus silvestris*, en pratiquant des effeuillages totaux ou partiels ainsi que des décortications annulaires.

tible de provoquer, elle aussi, la prolifération de la zone génératrice, aussi bien sur l'hypocotyle de *Phaseolus*, que sur les rameaux de différents arbres. Pour éviter tout traumatisme susceptible de troubler le développement normal du végétal, il enrobe alors dans du plâtre les feuilles épicotylaires de *Phaseolus*, inhibant ainsi leur développement sans les léser ; il constate, cette fois encore, qu'il ne se différencie dans l'hypocotyle que quelques faisceaux cribro-vasculaires, et que ceux-ci sont rudimentaires. Des expériences complémentaires lui permettent alors de confirmer que, ni l'éclairement, ni la présence de feuilles adultes, n'interviennent dans ce phénomène, ce qui l'amène à éliminer les théories basées sur l'activité assimilatrice des feuilles ; il précise enfin le fait que l'influence foliaire ne s'exerce que dans le sens feuille-racine.

A la suite de ces recherches, JOST passe en revue les hypothèses émises par ses prédécesseurs et les critique sans ménagement, avec des arguments irréfutables, car il est le premier qui soit parvenu à étayer ses observations physiologiques sur l'influence des bourgeons par des études anatomiques précises. Toutefois, ce savant ne rejette pas en bloc toutes les idées de ses devanciers ou contemporains ; il s'inspire en effet des théories de VÖCHTING et de SACHS, lorsqu'il admet que la feuille exerce une action excitante, qui détermine la formation de vaisseaux dans la tige, et que cette influence inductrice se transmet uniquement dans le sens feuille-racine. Cependant, il ne précise pas la nature de cette action et son mémoire de 1893 se termine par ces phrases :

Die Pflanze regelt die Bildung von Organen und sekundären Geweben nach spezifischen Gesetzen, sie kann aus den vorhandenen Stoffen verschiedenartige Gebilde an verschiedenen Stellen ihres Körpers aufbauen. In die Mechanik der betreffenden Vorgänge aber haben wir keinen Einblick, wir können höchstens ihre Zweckmässigkeit einsehen. »

Les travaux effectués ultérieurement vont vérifier, tout d'abord, les résultats de JOST, puis tenter de préciser la nature de l'influence excitante exercée par les bourgeons. C'est ainsi que LUTZ et WIELER confirment les observations de JOST, et, en particulier, le fait que l'activité assimilatrice des feuilles ne joue aucun rôle dans la croissance cambiale. De plus, WIELER constate secondairement que l'enlèvement des bourgeons n'empêche pas la formation de racines ; il remarque, en outre, que les radicules formées provoquent, dans la racine principale, une lignification progressive orientée dans le sens racine-feuille. Ceci l'amène à étendre la conclusion de JOST, à laquelle il se rattache, et à écrire : « Weiter deutet diese Erscheinung darauf hin, dass die cambiale Thätigkeit von zwei entgegengesetzten Seiten beginnt, von Seiten der Blätter und von Seiten der Wurzeln, oder allgemein gesprochen, wo den Stellen aus, wo Anhangsorgane entstehen. »

En 1902, VÖCHTING étudie le comportement de végétaux herbacés privés des méristèmes terminaux et axillaires, sur lesquels il laisse subsister uni-

quement le feuillage adulte. Il constate qu'il ne se forme, dans ce cas, aucun élément lignifié dans la tige, mais que la zone génératrice récupère son activité dès que les bourgeons sont régénérés. Après cette nouvelle confirmation des résultats de JOST, cette question cesse d'être à l'ordre du jour et, pendant huit ans, elle ne fait plus l'objet d'aucun mémoire.

Il nous faut attendre que la physiologie animale ait effectué un progrès important pour qu'un chercheur ait l'idée de relier les résultats acquis sur les enzymes dans ce domaine avec les observations de JOST et de WIELER. C'est ainsi qu'en 1910, KEEBLE imagine qu'un « chemical stimulator » élaboré par les feuilles est responsable de la prolifération cambiale. En 1915, GROSSENBACHER émet l'hypothèse que la croissance en épaisseur est contrôlée par un « processus enzymatique » dépendant des phénomènes d'élongation terminale. Précisant ainsi la nature de l'agent imaginé par KEEBLE, cet auteur suppose qu'un enzyme libéré ou activé lors de l'éclatement des bourgeons, et lors de la croissance foliaire ultérieure, est transporté ensuite dans les différentes parties du végétal. Ce travail constitue le premier essai d'explication par une théorie humorale de l'action exercée par les méristèmes sur la prolifération cambiale.

En 1917, ANTEVS publie sur cette question une mise au point qui constitue un véritable recul sur les remarquables recherches effectuées jusqu'alors, et les ingénieuses explications de JOST et de GROSSENBACHER. ANTEVS constate que les chercheurs n'ont pas obtenu des résultats parfaitement concordants, quant au sens et à la vitesse de propagation polarisée de la croissance cambiale, et il attire l'attention sur l'importance des conditions extérieures (lumière, température) dans la rapidité de cette propagation. Se basant enfin sur le décalage que l'on observe entre la date d'ouverture ou de fermeture des bourgeons et celle de la reprise ou de la cessation de l'activité cambiale, décalage variant entre quelques jours et un mois, il conclut qu'il n'existe pas de rapport intime entre la croissance en épaisseur et le développement foliaire. Les conclusions d'ANTEVS font douter de la rigueur de ses observations, et il est vraisemblable, par exemple, qu'il n'a pas tenu compte du fait que l'on observe, très fréquemment, un gonflement des bourgeons avant leur éclatement, gonflement qui traduit des processus de croissance active ; de plus, pour certaines espèces, il n'existe pas de repos hivernal total. Il est probable que si cet auteur avait effectué des études anatomiques approfondies, il n'aurait pas été amené à infirmer à la légère les résultats de JOST.

A la suite des publications d'HABERLANDT sur la physiologie de la division cellulaire, et de celles de LOEB, sur la polarité, E. KASTENS (1924) effectue une série de recherches qui l'amènent à conclure que la croissance en épaisseur, en dessous d'une décortication annulaire, apparaîtrait seulement chez les plantes possédant du liber interne. Celui-ci, non lésé lors de la décortication, continuerait à transporter vers le bas la substance de division élaborée par les bourgeons. Cette hypothèse a le mérite d'essayer de

déterminer la voie suivie par le facteur de prolifération sécrétée par les méristèmes.

A ce moment, COSTER commence à Buitenzorg de remarquables travaux sur les rapports entre l'activité de la croissance foliaire et la prolifération cambiale. Son mémoire définitif, publié en 1927, comporte une étude expérimentale approfondie, effectuée sur différents types d'arbres tropicaux vivant à Java. COSTER considère le cas d'espèces dont les feuilles tombent pendant toute la période sèche, puis celles qui ne les perdent que pendant très peu de temps, et enfin, certaines à feuilles persistantes. Cet auteur effectue des essais de décortication annulaire, et il élimine plus ou moins complètement les bourgeons ; en outre, il réalise des observations comparatives sur des plantes cultivées à la lumière et à l'obscurité. Il complète ses observations morphologiques par des considérations anatomiques très sérieuses, basées sur la structure des néoformations produites par le cambium. Il remarque, par exemple, qu'un ébourgeonnage partiel provoque, au printemps, la formation de bois d'automne. Nous verrons que ce caractère sera précieux aux chercheurs qui reprendront ultérieurement cette question.

COSTER étudie, en outre, l'influence qu'exercent, sur la structure des néoformations, divers facteurs externes, tels que les traumatismes, l'éclairement, la température, l'humidité, la tension de l'écorce, etc..., reprenant ainsi les recherches partielles effectuées par NYDAM, AMILON, KNUDSON et SCHUITMAKER. Il vérifie et approfondit ainsi tous les résultats de ses devanciers, et, après avoir apporté de nouveaux arguments à ceux déjà donnés par JOST pour ruiner définitivement les théories trophiques, il exprime, avec une grande netteté, l'hypothèse que la prolifération cambiale est provoquée par le transport, dans le sens feuille-racine, d'une hormone sécrétée par les méristèmes en voie de croissance.

BENECKE et JOST (1923) avaient aussi émis l'hypothèse d'un mécanisme analogue, en imaginant le transport vers le bas d'une hormone formatrice de vaisseaux, ce qui laissait supposer, en outre, l'existence d'hormones agissant spécifiquement sur la formation de tubes criblés, de fibres, etc... KASTENS, en 1924, avait présumé, à côté de l'hormone de division, la présence d'autres facteurs réglant le métabolisme. COSTER simplifie toutes ces conceptions et estime que les méristèmes primaires sécrèteraient simplement une hormone de division agissant sur la zone génératrice, qui différencierait alors des vaisseaux et des tubes criblés sur ses faces interne et externe, en raison de sa nature de méristème secondaire.

Nous allons entrer maintenant dans la période moderne de l'histoire de cette question. Les résultats obtenus jusqu'à présent sont, somme toute, assez décevants, car les auteurs ne sont pas parvenus à combler le fossé profond qui sépare leurs résultats expérimentaux de leurs interprétations ; aucune observation ne les autorise vraiment à attribuer la moindre valeur aux hypothèses formulées pour expliquer la relation constatée entre les

croissances cambiale et foliaire. Rien n'a démontré l'existence des substances formatrices prévues par SACHS, et les recherches d'HABERLANDT sur les hormones de blessures et de division ont suscité tant de critiques qu'une méfiance de principe dresse les chercheurs contre toute théorie humorale.

Mais en 1928, une ère nouvelle, riche de promesses, va s'ouvrir. Au cours de recherches célèbres, F. W. WENT découvre la substance de croissance dont BOYSEN-JENSEN et PAAL soutenaient depuis longtemps l'existence. L'isolement des auxines par KÖGL, et surtout la découverte des hétéro-auxines, vont permettre aux physiologistes d'exploiter la voie tracée par JOST, SACHS, LOEB et COSTER.

Néanmoins, pendant quelques années encore, divers chercheurs tentent d'expliquer le mécanisme de l'action des bourgeons sur la croissance cambiale par des théories complexes dans lesquelles n'apparaît pas la notion de substance formatrice. Tel est, par exemple, le cas des travaux de PRIESTLEY et de ses collaborateurs, publiés entre 1929 et 1935. Ces travaux conduisent PRIESTLEY à estimer qu'il se produit, au printemps, une modification de l'état colloïdal du cytoplasme des cellules cambiales, qui passent de l'état de « gel » à l'état de « sol » sous l'influence de la reprise de la montée d'eau dans le bois. Une fois réalisé ce changement d'état physique, les cellules de la zone génératrice commencent à se multiplier, d'abord au niveau des bourgeons, puis dans les rameaux, dans les branches, dans le tronc et enfin dans les racines, en donnant du bois de printemps. Cette transmission basipète de l'activité cambiale serait due au déplacement vers le bas, à l'intérieur des tubes criblés, des substances plastiques produites par les bourgeons.

La formation de bois d'automne débiterait, pour PRIESTLEY, au moment où la croissance foliaire est complète ou maximum, c'est-à-dire quand le transport vers le bas des glucides élaborés est, lui aussi, maximum. L'arrêt de l'activité cambiale serait la conséquence d'un dessèchement progressif de l'arbre, dessèchement résultant, non pas d'une augmentation de la pression osmotique dont serait responsable l'accumulation des réserves, mais des conditions extérieures. Pour étayer son raisonnement, PRIESTLEY signale, par exemple, que lors d'un été humide, on peut observer, en fin de saison, la formation d'un anneau supplémentaire de bois de printemps. Corrélativement avec ce dessèchement progressif, cet auteur suppose que de l'air remplace l'eau dans les méats cellulaires et que les cellules cambiales cessent de proliférer lorsque ce processus a lieu dans leur voisinage, faisant ainsi repasser leur cytoplasme de l'état de « sol » à l'état de « gel ».

Nous n'insisterons pas sur cette théorie, qui ne semble pas avoir attiré l'attention des contemporains de PRIESTLEY, pas plus que sur les hypothèses similaires émises par les autres chercheurs de l'Ecole de Leeds. Nous nous bornerons à signaler les observations de GILL (1933), qui, reprenant les recherches de CHALK, parues en 1927, remarque que les inflores-

cences de *Populus serotina* et de *Salix capraea*, sont susceptibles, elles aussi, de provoquer la reprise de l'activité cambiale au printemps.

Fort heureusement, les résultats de BOYSEN-JENSEN et de WENT ne devaient pas rester lettre morte pour tous les chercheurs. En 1930, SIMON greffe un bourgeon provenant d'une plante d'une famille sur un rameau d'une plante appartenant à une autre famille, et il obtient ainsi la reprise de l'activité de la zone génératrice du sujet, bien qu'une véritable soudure ne se soit pas réalisée entre les tissus mis en contact. Cet auteur ne tire pas de conclusion nette de son expérience, qui va cependant inspirer d'autres chercheurs.

C'est ainsi qu'à partir de 1933, R. SNOW publie les résultats d'observations qu'il effectue sur de jeunes plantules. Dans une première série de recherches, il reprend et précise les expériences de SIMON, en opérant de la façon suivante : plaçant côte à côte une plantule de Soleil, dont il a sectionné un cotylédon et une plantule de Pois possédant tous ses bourgeons, il fend les axes des deux plantules sur une longueur de quelques centimètres. Puis il écarte la moitié de l'épicotyle de Pois dans sa région basale, et pratique la même opération pour la partie apicale de la moitié de l'hypocotyle de Soleil. Il réunit les deux demi-axes ainsi préparés et les maintient en place par une ligature (fig. 4) ; après vingt-deux jours de contact, des

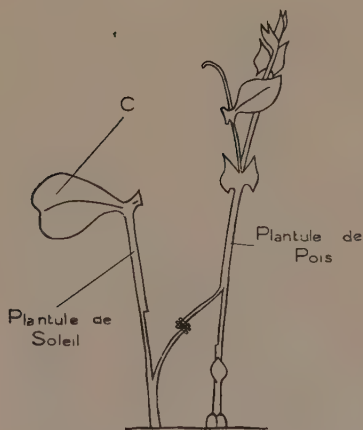


Fig. 4. — Expérience montrant que l'action des bourgeons sur la prolifération cambiale se manifeste à travers une « discontinuité protoplasmique » (d'après SNOW).

SNOW fend sur quelques centimètres de long, l'hypocotyle d'une plantule de Soleil dont il a sectionné un cotylédon, et pratique une mutilation analogue sur l'épicotyle d'une plantule de Pois portant tous ses bourgeons. Il réunit, alors, par une ligature, le demi-axe de la plantule de Soleil situé en dessous du cotylédon sectionné à la moitié de l'épicotyle de Pois.

Vingt-deux jours après, SNOW effectue des coupes dans la portion d'hypocotyle de Soleil reliée à l'épicotyle de Pois, et constate que le cambium de celle-ci a proliféré sous l'influence des bourgeons de la plantule de Pois, bien que les tissus maintenus en contact par la ligature ne se soient pas soudés. D'autre part, la prolifération de cette région du cambium est aussi intense que celle qui

se manifeste au niveau de la portion de zone génératrice située en dessous du cotylédon non mutilé.

Snow en tire la conclusion que l'influence stimulante exercée par les bourgeons se transmet à travers une discontinuité protoplasmique.

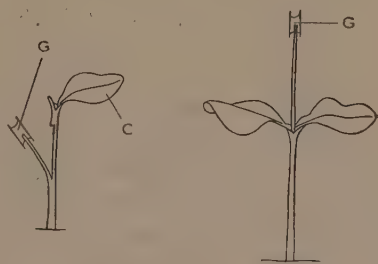
coupes anatomiques, pratiquées dans l'hypocotyle de Soleil, lui révèlent que la portion de zone génératrice, située en dessous du cotylédon mutilé, a subi une action stimulante de la part des bourgeons de la plantule de Pois, et

qu'elle a proliféré de façon identique à la portion située en dessous du cotylédon restant.

Ayant ainsi mis en évidence le fait que les bourgeons exercent un stimulus susceptible de se transmettre à travers une « discontinuité protoplasmique », et d'agir sur une plante d'une famille très différente de celle qui a produit le stimulus, SNOW entreprend de vérifier la nature humorale de cette action inductrice ; pour cela il effectue une deuxième série de recherches : en se servant d'une technique analogue à celle précédemment décrite, il mutile deux plantules de *Vicia faba*, et interpose, entre les parties en contact, un fragment de mousseline préalablement trempé dans une solution de gélatine. Il constate que le stimulus cambial se transmet à travers cet écran perméable, et il conclut alors, de façon plus nette, à sa nature humorale.

Il restait à identifier l'hormone agissante. Pour cela, SNOW se reporte aux résultats de CZAJA et à ceux de THIMANN et SKOOG (1934), qui montrent que des pousses étiolées de végétaux ligneux ou herbacés contiennent une substance, qui, isolée dans de la gélose, agit sur le coléoptile d'avoine. SNOW se demande alors si cette substance ne serait pas le facteur histogène sécrété par les bourgeons, et il effectue une expérience préliminaire en collaboration avec LE FANU (1935). Ces deux auteurs constatent que le cambium de l'hypocotyle d'*Helianthus* prolifère si l'on y pratique des applications

Fig. 5. — Technique utilisée par SNOW pour étudier l'action de l'auxine et de l'hétéro-auxine sur des plantules de Soleil (d'après SNOW).



SNOW incorpore de l'auxine ou de l'acide indole-acétique à de la gélatine contenue dans un petit tube de verre (G). Il enfonce ensuite dans la gélatine, soit la moitié de l'axe hypocotylé d'une plantule de Soleil convenablement découpée, soit l'extrémité d'un épicotyle dont il a, au préalable, sectionné les bourgeons.

De cette manière, SNOW constate que l'auxine et l'hétéro-auxine, utilisées à des concentrations de l'ordre de 10^{-6} , provoquent une prolifération du cambium analogue à celle que l'on observe sur des plantules non mutilées. C : Cotylédon.

d'urine ou d'extrait éthéré d'urine. SNOW parachève ce travail en faisant agir diverses concentrations d'acide indole-acétique et d'auxine sur des plantules de Soleil mutilées (voir fig. 5). Il constate, alors, que des doses de 2.10^{-6} d'auxine et de 1.10^{-6} d'hétéro-auxine provoquent une prolifération cambiale comparable à celle observée sur des plantules non mutilées. Ce savant en déduit que les feuilles produisent de l'auxine et que cette substance est responsable de l'activité cambiale.

La même année, BROWN, étudiant le développement de bourgeons adventifs sur des racines de *Populus balsamifera*, constate que la prolifération

cambiale est déterminée par les méristèmes et qu'elle se propage de façon basipète. Mais BROWN ne prend pas parti pour une théorie quelconque sur l'origine de ce phénomène, et se contente de comparer la progression de l'activité cambiale à un flux.

En 1936, de très nombreux mémoires sont publiés sur l'influence des bourgeons et tous les chercheurs imputent alors à l'auxine la responsabilité de la croissance cambiale, en précisant des points de détail. Mais ils ne sont pas d'accord sur le mécanisme qui préside à la conduction et à l'utilisation de cette hormone.

C'est ainsi que ZIMMERMANN constate que les axes jeunes et âgés de végétaux ligneux contiennent une certaine quantité de substance de croissance, mais seulement en dehors de la période hivernale, et il estime que cette hormone doit être utilisée lors de la croissance cambiale.

Simultanément, SÖDING publie le résultat de ses recherches qui reprennent celles de SNOW sur les plantules d'*Helianthus*. Cet auteur fait agir de l'acide indole-acétique sous forme cristalline, directement sur le cambium, en pratiquant une plaie dans l'écorce de divers végétaux ligneux. Il observe une formation locale de bois aberrant, mais à mesure que les observations anatomiques portent sur des régions de plus en plus basales par rapport à l'endroit où l'on a placé le cristal, la structure du bois formé devient progressivement normale. Pour expliquer ceci, SÖDING imagine la présence, à côté de l'auxine qui provoquerait la prolifération cambiale, d'un groupe d'autres hormones dont chacune régirait spécifiquement la formation ou de vaisseaux, ou de tubes criblés, ou de fibres, etc..., et qui se déplaceraient dans le végétal dans le sens feuille-racine. Cette théorie se rapproche beaucoup de celle proposée par BENECKE et JOST en 1923 : SÖDING émet, en outre, l'hypothèse que chaque cellule cambiale recevrait, non seulement une certaine quantité de substance de croissance, mais qu'elle serait aussi capable d'en former elle-même et de la transmettre plus loin.

Toute cette interprétation est vivement critiquée, car cet auteur fait agir l'hétéro-auxine à des doses très supérieures aux doses physiologiques ; en effet, THIMANN avait trouvé dans la Fève des concentrations d'auxine de l'ordre de 10^{-6} . Par la suite, GOUWENTAK répète ces recherches avec des techniques lui permettant d'étudier l'action de la substance de croissance à des concentrations correspondant à celles que l'on rencontre normalement dans la plante.

Dans une première série d'expériences, GOUWENTAK fait agir de l'acide indole-acétique sur l'extrémité proximale de jeunes rameaux de Frêne sectionnés, en dissolvant cette substance dans une pâte à la lanoline confectionnée selon la méthode de LAIBACH. Sept jours après l'application de doses déterminées, variant de 10 à 35 γ . l'examen de coupes pratiquées dans les jeunes rameaux traités, montre qu'au niveau de la section, il se différencie un bois de lésion à structure voisine de celle du bois de printemps normal, et dont les caractères différentiels diminuent à mesure que l'on étudie une

région de plus en plus éloignée de l'extrémité foliaire de la bouture. Lorsque l'on fait agir une dose de 10 γ , le bois néoformé est identique au bois de printemps normal à une distance de deux millimètres en-dessous de l'endroit d'application. Mais si l'on applique une quantité d'hétéro-auxine de l'ordre de 35 γ , la structure du bois apparu sous l'action de l'acide indole-acétique ne devient identique à celle du bois de printemps qu'à un centimètre en-dessous du point d'application. Ce résultat permet déjà à GOUWENTAK d'élever une objection contre la théorie de SÖDING, qui devrait alors comporter l'hypothèse supplémentaire suivante : une dose faible d'hétéro-auxine provoque la formation d'une plus grande quantité de substance formatrice de vaisseaux qu'une dose forte, puisque, sous l'influence de faibles concentrations d'hétéro-auxine, le bois formé acquiert une structure normale à deux millimètres en-dessous du point d'application, tandis qu'avec de fortes doses, on observe du bois de lésion anormal sur un centimètre. Cette hypothèse de secours semble difficilement acceptable..

D'autre part, en étudiant l'action de diverses concentrations d'acide indole-acétique, GOUWENTAK constate que les doses faibles favorisent la formation de bois d'automne, alors que des quantités légèrement supérieures provoquent la différenciation de bois de printemps.

Dans une autre série d'expériences, cet auteur extrait les substances de croissance contenues dans des feuilles adultes, dans des bourgeons en voie de développement, et les fait agir sur des boutures de tiges de Frêne ; elle constate alors qu'il ne se forme que du bois d'automne ; GOUWENTAK explique ceci en supposant, soit que le matériel extrait contient trop peu d'auxine, soit que l'extraction de l'auxine a été incomplète.

A la suite de ses recherches, GOUWENTAK tire la conclusion qu'une substance du groupe des auxines est bien l'agent qui provoque la prolifération cambiale et que l'hétéro-auxine seule est capable de remplir ce rôle, puisqu'elle est capable de provoquer, suivant sa concentration, la formation de bois d'automne ou de printemps. Pour expliquer que la croissance cambiale se propage des régions apicales vers les régions basales de la plante, elle suppose, comme SÖDING, que le cambium serait la voie de passage de l'auxine, et que chaque cellule cambiale ne pourrait conduire la substance de croissance que vers le bas. Après s'être divisée, il faudrait qu'une cellule reçoive à nouveau une certaine quantité de substance de croissance, venant d'en haut, avant de pouvoir se diviser à nouveau ; la taille des éléments formés dépendrait de la quantité reçue : une forte dose provoquerait la formation de bois de printemps, et une dose plus faible la formation de bois d'automne, ce qui correspond aux résultats déjà obtenus par COSTER en 1927 lorsqu'il observe des modifications correspondant à ces résultats dans la texture du bois formé lors d'un ébourgeonnage plus ou moins poussé de l'arbre. En effet, ce traitement a pour conséquence de diminuer la quantité d'auxine mise en jeu. Cette hypothèse permet, en outre, d'expliquer le fait qu'en haut de l'arbre, on a déjà du bois d'automne,

alors que le cambium des régions inférieures produit encore du bois de printemps.

GOUWENTAK propose d'ailleurs ces hypothèses d'une manière tout à fait mesurée et n'écarte, *a priori*, aucune des solutions proposées par les autres chercheurs en se basant sur des observations effectuées sur leur matériel particulier.

La même année, F. W. WENT, dans une mise au point concernant le problème du rôle joué par les auxines dans le développement végétal, estime que la « Wuchsstoff » elle-même ne provoque pas la prolifération cambiale, mais qu'elle détermine la formation d'un excitant de la prolifération cellulaire dont elle règle, en outre, le transport polarisé. En s'appuyant sur les résultats de GOUWENTAK, il est possible d'élever contre cette théorie la même objection que celle qui a déjà été opposée à SÖDING. Rappelons, en effet, que GOUWENTAK, effectuant des coupes en série dans des rameaux sur lesquels elle a fait agir diverses doses d'hétéro-auxine, constate que la structure du bois apparu dans ces conditions et celle du bois normal sont identiques à une distance d'autant plus réduite du point d'application que la quantité d'acide indole-acétique mise en jeu a été plus faible. Il est également difficile d'admettre, dans ce cas, que de faibles doses d'auxine agiraient de façon plus rapide que les fortes doses sur la production d'un excitant de la division cellulaire.

D'autre part, WENT et THIMANN, qui proposent à nouveau cette explication en 1937, ne précisent pas la voie de conduction de l'auxine vers les régions basales, tout en tenant pour vraisemblable l'hypothèse d'une transmission cambiale soutenue par GOUWENTAK (1936), ainsi que par COOPER (1936). WENT reproche à toutes les recherches antérieures effectuées avec de l'auxine pure ou de l'acide indole-acétique d'avoir été réalisées avec des doses paraphysiologiques. Il pense, en outre, que certaines des réactions cambiales observées pourraient être dues à une hormone de plaie analogue à la nécro-hormone d'HABERLANDT. Il signale, d'autre part, le fait que le stimulus cambial ne se propage qu'à une faible distance du point d'application et s'appuie sur ce faisceau d'arguments pour postuler l'existence d'un excitant de la division cellulaire à côté de l'auxine. Néanmoins, WENT et THIMANN reconnaissent eux-mêmes comme troublant, le fait qu'en 1937 AVERY, BURKHOLDER et CREIGHTON, étudiant la distribution de l'auxine dans les branches en suivant la croissance des bourgeons, aient observé un parallélisme net entre le mouvement basipète de cette hormone et l'activité cambiale.

D'autre part, REHM (1936), BROWN et CORMACK (1937), tiennent eux aussi pour certain que l'auxine règle la croissance radiale au printemps et SÖDING en 1937 et 1938 s'est aussi rangé à cette opinion. Tous ces auteurs ont effectué des dosages périodiques de substance de croissance dans les végétaux au cours de leur cycle de végétation. Ils ont, d'autre part, repris les expériences avec de l'hétéro-auxine et leurs interprétations ne varient plus que

sur quelques points, en particulier, sur la voie de conduction vers les régions basales de la substance de croissance. C'est ainsi que SÖDING (1937) admet que ce sont les tubes criblés qui assurent le transport polarisé de l'auxine, alors que HÜBER, SCHMIDT et JAHNEL (1937) accordent comme GOUWENTAK ce rôle au tissu cambial. Le matériel utilisé par ces auteurs ne peut leur permettre, d'ailleurs, de déterminer avec précision le trajet suivi par l'auxine au sein des tissus, puisqu'ils sont dans l'impossibilité d'étudier les réactions propres du liber.

Mais une des objections de WENT, qui reprochait au stimulus cambial obtenu artificiellement de ne se propager qu'à une faible distance du point d'application, n'est toujours pas écartée. SÖDING, en 1937, estime que ce phénomène est lié au fait que les rameaux expérimentés ne sont pas placés dans des conditions physiologiques normales ; toutefois, cette explication ne satisfait pas les chercheurs.

En 1940, GOUWENTAK et MAAS publient le résultat des recherches effectuées dans le but de résoudre ce point demeuré obscur. Ces auteurs précisent les conditions externes et internes que doivent remplir des fragments de tiges de Frêne, de Peuplier et de Saule, pour que le stimulus cambial exercé par une pâte à l'hétéro-auxine, appliquée à l'extrémité foliaire, se propage jusqu'à l'extrémité opposée des explantats : ils constatent qu'il est nécessaire d'augmenter la dose d'acide indole-acétique que GOUWENTAK avait employé précédemment (de 30 à 100 γ), et d'accroître également la durée des expériences ; enfin, les différences observées par les autres chercheurs dans la propagation à grande distance résulteraient, selon GOUWENTAK et MAAS, de l'état de repos hivernal plus ou moins accusé des fragments expérimentés.

La même année, SÖDING extrait, par diffusion dans la gélose, la substance de croissance produite par les bourgeons, et remarque que celle-ci est capable de provoquer la croissance cambiale, confirmant ainsi les résultats obtenus par THIMANN en 1934.

En 1940, JOST, reprenant les recherches qu'il avait commencées en 1891, fait agir de l'auxine et de l'hétéro-auxine sur des plantules de Haricot. Il observe, comme l'a fait GOUWENTAK, que la structure des vaisseaux formés, dans ce cas, se rapproche de celle des éléments normaux à mesure que l'on s'éloigne du point d'application. Il en tire une théorie complexe très voisine de celle de SÖDING, selon laquelle l'auxine agirait seulement sur la division cellulaire, provoquant alors la libération par les tissus de substances différenciatrices spécifiques. JOST pense, en outre, que non seulement les bourgeons seraient capables de synthétiser de l'auxine, mais que les cellules cambiales posséderaient elles aussi cette propriété. Il s'appuie pour cela sur plusieurs arguments :

1° Quatorze jours après la décapitation des plantules, il trouve encore de l'auxine dans les tissus.

2° Il constate, en examinant des coupes en série sur toute la longueur

des hypocotyles, que le nombre des vaisseaux formés augmente à mesure que l'on se rapproche de la base des fragments.

3° Il rappelle les résultats de R. HARTIG concernant la formation de bois dans des arbres complètement effeuillés.

En 1941, GOUWENTAK reprend les résultats qu'elle avait obtenus précédemment avec MAAS, en s'intéressant, cette fois, plus particulièrement aux

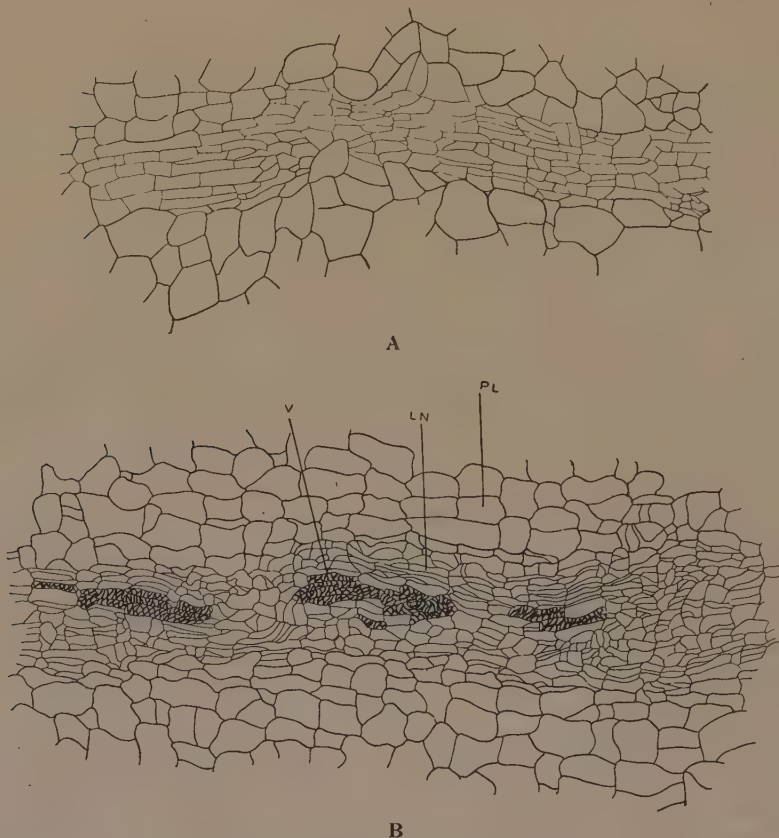


Fig. 6. — Modifications anatomiques provoquées par l'acide indole-acétique dans le liber de Carotte (d'après GAUTHERET).

A. — Coupe pratiquée dans le liber normal de Carotte. Le liber de Carotte est constitué par un parenchyme homogène que traversent des faisceaux conducteurs dont on voit ici un spécimen. Ce faisceau est constitué par un cordon de cellules aplaties (cordon libérien) dont certaines sont des tubes criblés.

B. — Coupe pratiquée dans une tranche de Carotte dont la face foliaire fut soumise pendant un mois à l'action de l'acide indole-acétique. La figure représente un cordon libérien. On constate que celui-ci a proliféré pour donner un massif de structure complexe constitué par des vaisseaux (V) associés à un tissu libérien néoformé (LN). Entre ces deux types d'éléments on distingue un rudiment de zone génératrice. Le parenchyme libérien lui-même (PL) ne s'est pas modifié.

conditions internes des rameaux expérimentés. Cet auteur réussit à « activer » au mois de décembre, en utilisant un traitement par la chlorhydrine du glycol mis au point par DENNY et STANTON en 1928, des boutures de rameaux de *Fraxinus ornus* en état de repos hivernal. La chlorhydrine du glycol, qui agit vraisemblablement sur l'hydratation cellulaire, n'est pas susceptible de provoquer, seule, la croissance cambiale. Mais l'application d'une pâte à l'hétéro-auxine sur l'extrémité foliaire de fragments traités, au préalable, pendant quarante-huit heures par des vapeurs de ce corps, provoque une prolifération cambiale, qui se propage jusqu'à l'extrémité opposée des boutures, alors que des témoins ne présentent qu'une réaction localisée au voisinage de la blessure. Ainsi était donc éliminée, de façon indubitable, la dernière objection sur laquelle s'appuyait WENT pour affirmer la nécessité de l'existence d'une substance excitant la division cellulaire à côté de l'auxine.

De 1940 à 1943, GAUTHERET effectue des recherches sur le transport polarisé des substances de croissance au sein des tissus de divers tubercules. Cet auteur constate que l'acide indole-acétique se déplace électivement dans le sens feuille-racine à l'intérieur de fragments de racines de Carotte, comportant du parenchyme vasculaire, du liber et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus. Une étude anatomique lui révèle que non seulement la zone génératrice prolifère sous l'action de cette substance, mais que le liber lui-même présente des modifications histologiques caractérisées par une dédifférenciation progressive, suivie d'une redifférenciation d'éléments conducteurs aberrants (fig. 6). Malheureusement, les fragments de tubercules de Carotte utilisés par GAUTHERET n'étaient pas susceptibles de bourgeonner, aussi ne pouvait-il songer à comparer les phénomènes d'histogénèse provoqués par l'hétéro-auxine à ceux exercés éventuellement par les bourgeons.

En 1943, nous commençons les recherches dont l'exposé va faire l'objet du présent mémoire.

On peut, à ce moment, schématiser de la manière suivante l'opinion de la plupart des chercheurs à propos de l'influence exercée par les bourgeons dans les processus d'histogénèse : les bourgeons sécrèteraient un certain nombre de substances morphogènes, dont une, au moins, l'auxine, serait identifiée de façon certaine. Cette auxine, dont le déplacement polarisé s'effectuerait, soit par l'intermédiaire du cambium, soit à l'intérieur des tubes criblés, conditionnerait la prolifération de la zone génératrice, et provoquerait ainsi la croissance en épaisseur.

Un doute subsiste néanmoins, car, dans toutes les expériences effectuées, soit sur des végétaux ligneux, soit sur des plantules, les chercheurs n'apprécient l'action des hormones naturelles ou synthétiques que sur un tissu méristématique susceptible de proliférer sous l'influence d'agents très divers ; de plus, pour déceler cette action, le seul critère dont ils disposent consiste à comparer la structure du bois ou du parenchyme vas-

culaire obtenu expérimentalement à celle des tissus normaux correspondant. Aussi, avons-nous alors pensé qu'il était nécessaire de reprendre cette question en expérimentant sur des objets bien différents de ceux précédemment utilisés, et permettant de mettre en œuvre des tests anatomiques plus précis.

Nous poursuivons nos travaux jusqu'en 1947. Durant cette période, quelques autres chercheurs entreprennent des expériences dont les conclusions se rapprochent des nôtres. Signalons, par exemple, qu'en 1945, OPPENHEIMER montre que la production de bois, dans les branches de *Pinus halepensis*, est liée aux phénomènes de croissance qui se produisent au niveau des extrémités des rameaux ; à la même époque, MONSELISE met en évidence la présence d'auxine dans les jeunes pousses de *Citrus*, confirmant ainsi les observations de CZAJA et de THIMANN et SKOOG.

Plus récemment encore, en 1948, NICKELL, s'inspirant des travaux de SIMON, de SNOW et de nos précédentes recherches qu'il connaît, parvient à greffer des bourgeons de *Melilotus alba* (Légumineuses) sur le parenchyme médullaire de jeunes tiges d'*Helianthus annuus* (Composées). Il obtient une soudure convenable entre le greffon et le sujet, ainsi qu'un développement appréciable du greffon. L'étude anatomique de ces plantes greffées lui révèle que le bourgeon de Mélilot induit la formation d'éléments cribro-vasculaires dans le parenchyme médullaire de la tige de Soleil, ce qui démontre que les facteurs histogènes sécrétés par les méristèmes en voie de croissance ne sont pas spécifiques.

Enfin, la même année, BUVAT signale que les remaniements histologiques induits dans les tissus sous-jacents par les bourgeons néoformés, sur des fragments de racine d'Endive, s'accompagnent de modifications cytologiques profondes. Il constate, notamment, que les éléments situés à la base de jeunes ébauches élaborent de l'amidon au lieu de produire de l'inuline, comme c'est le cas des cellules environnantes. Cette déviation des processus de mise en réserve n'est pas due à la photosynthèse, car elle s'opère de la même manière à la lumière et à l'obscurité.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Nos recherches furent effectuées aseptiquement, en utilisant les méthodes de culture *in vitro* imaginées par GAUTHERET.

Nous ne mentionnerons que brièvement ces méthodes, car elles ont été décrites en détail par cet auteur, dans son Manuel Technique (1942). Par contre, nous insisterons plus longuement sur quelques procédés particuliers que nous avons dû créer nous-même pour les besoins de nos recherches.

CHAPITRE I

TECHNIQUES GENERALES DE MISE EN CULTURE

La méthode des cultures *in vitro* nécessite l'emploi des précautions d'asepsie utilisées par les microbiologistes. Nous avons donc opéré dans des locaux spécialement aménagés, fréquemment désinfectés, et en nous mettant à l'abri de toutes les causes possibles de contamination massive, telles que débris organiques abandonnés à l'air, récipients contenant des milieux ou des cultures infectées, etc...

Nous considérerons, tout d'abord, la préparation des milieux nutritifs, puis la mise en culture des tissus que nous avons utilisés dans nos expériences, c'est-à-dire les tissus d'organes charnus et le tissu cambial d'Orme.

I. — Milieux et récipients

Les milieux de culture que nous utilisons sont extrêmement simples. Le milieu fondamental est la solution nutritive de Knop dont la formule est la suivante :

Nitrate de calcium	1 gr.
Nitrate de potassium	0 gr.,25
Sulfate de magnésium	0 gr.,25
Phosphate monopotassique	0 gr.,25
Eau distillée (1)	1000 gr.

(1) Nous utilisons systématiquement de l'eau distillée dans un appareil en Pyrex, car l'eau distillée dans un alambic ordinaire contient des sels de cuivre et elle est légèrement toxique.

On additionne cette solution, diluée de moitié, d'une quantité de glucose variable selon le végétal ensemencé (de 1,5 à 2 %), puis on ajoute au milieu des traces des éléments oligodynamiques contenus dans la solution de Berthelot, modifiée par GAUTHERET (1). On solidifie ce milieu par l'addition d'une quantité de gélose variant, elle aussi, selon le matériel expérimenté (de 1 à 1,2 %) ; cette gélose est d'abord lavée pendant deux heures à l'eau courante, puis essorée et ajoutée au liquide nutritif, que l'on fait alors bouillir dans une capsule de porcelaine. Le liquide bouillant est filtré sur coton hydrophile, et l'on coule ensuite le milieu dans les récipients de culture, consistant en des tubes de verre ordinaire, à fond rond, de 24 à 32 mm. de diamètre, et d'une longueur de 16 à 25 cm., à raison de 15 à 30 cm³ de milieu par tube. On bouche ensuite les tubes avec du coton cardé, et on les stérilise par un passage de vingt minutes environ à l'autoclave à 120°. Après refroidissement, les tubes de culture sont prêts à recevoir les échantillons prélevés.

II. — Mise en culture des tissus d'organes charnus

Les opérations de mise en culture des tissus d'organes charnus sont à peu près identiques pour tous les matériels que nous avons utilisés. Nous indiquerons, brièvement, les procédés généraux de stérilisation des tubercules, puis les méthodes de prélèvement, et nous examinerons, enfin, les particularités techniques relatives à la mise en culture des différents tissus dont nous nous sommes servi.

A. — Généralités sur les méthodes de stérilisation

Les parties superficielles des organes charnus que nous ensemençons sont constamment contaminées par une foule de microorganismes. Afin d'éviter une infection systématique des milieux de culture qui compromettrait définitivement la prolifération des explantats, il est nécessaire de tuer les

(1) La solution de Berthelot modifiée possède la composition suivante :

Sulfate ferrique	50 gr.
Sulfate de manganèse	2 gr.
Iodure de potassium	0 gr. 5
Chlorure de nickel	0 gr. 05
Chlorure de cobalt	0 gr. 05
Sulfate de titane	0 gr. 20
Sulfate de zinc	0 gr. 10
Sulfate de cuivre	0 gr. 05
Sulfate de glucinium	0 gr. 10
Acide borique	0 gr. 05
Acide sulfurique à 66° Baumé	1 cc.
Eau distillée	1000 gr.

Cette solution est ajoutée au milieu de culture à raison de une goutte pour 100 cc. de milieu.

cellules de ces régions périphériques, sans affecter toutefois les tissus aseptiques sous-jacents.

Nous utilisons, pour cela, la méthode de stérilisation mise au point par GAUTHERET, qui consiste à gratter soigneusement les tubercules, puis à les laver à l'eau ordinaire, et à les laisser séjourner un certain temps (25 minutes à 1 heure) dans une solution d'hypochlorite de calcium. Cette solution antiseptique est préparée de façon suivante :

On laisse en contact pendant dix minutes, en agitant constamment,

Fig. 7. — Mise en culture de prismes d'organes *charnus* (d'après GAUTHERET).

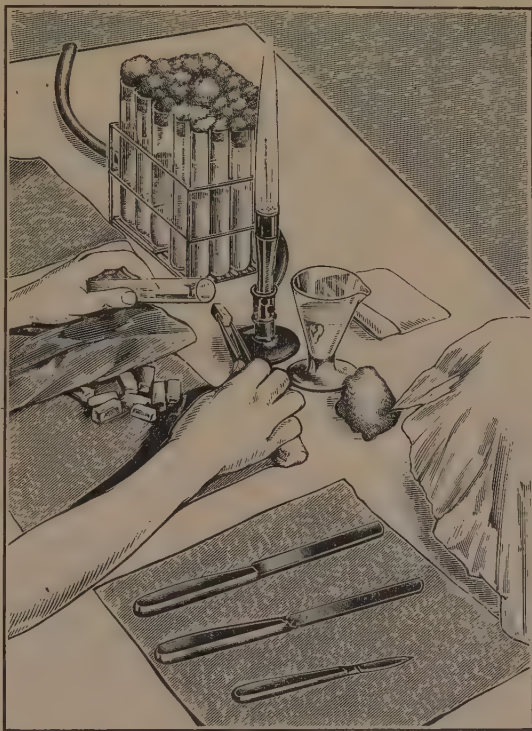
L'organe ayant été préalablement découpé en prismes, au moyen des deux couteaux à cerveau et du bistouri que l'on distingue vers le bas de la figure, on procède à la mise en culture des fragments.

Pour transporter un prisme dans le milieu nutritif, saisir un tube de la main gauche et des pinces de la main droite. Incliner le tube et le déboucher au moyen de la main droite, le tampon de coton étant tenu entre le dernier doigt replié et la paume de la main.

Flamber l'orifice du tube, soulever la feuille de papier recouvrant les fragments, saisir un prisme avec les pinces et l'introduire dans le tube en l'enfonçant de 3 à 4 millimètres dans la gélose. Flamber le coton et l'orifice du tube; puis reboucher celui-ci.

Remarquer sur la table le panier de tubes, le bec Méker, un verre d'alcool, et, derrière celui-ci, une feuille de papier enveloppant les rondelles de papier d'étain destinées au capuchonnage des tubes. Sur la droite, on distingue un tampon de coton imbibé d'alcool, ainsi qu'une feuille de papier recouvrant la capsule qui contient les objets à expérimenter.

De part et d'autre de l'opérateur se trouvent des feuilles de papier aseptiques destinées à protéger les instruments après leur flambage. Devant lui sont placées d'autres feuilles sur lesquelles on pratique le découpage des tissus.



90 gr. d'hypochlorite de calcium à 200° chlorométriques et 1000 gr. d'eau distillée ordinaire. On filtre, ensuite, sur papier et l'on utilise la solution claire ainsi obtenue. Les organes que l'on veut désinfecter sont immergés dans cette solution que l'on renouvelle une ou deux fois en cours d'opéra-

tion. Après cette stérilisation superficielle, les organes sont lavés dans plusieurs bains successifs d'eau stérile. On procède alors aux opérations de prélèvement.

B. — Généralités sur les méthodes de prélèvement

On pratique les opérations de prélèvement dans une salle spéciale, fréquemment lavée à l'eau de Javel, afin de réduire au minimum les risques d'infection accidentelle par l'air. Les manipulations ont lieu sur une pailasse en grès émaillé, qui est désinfectée au moment de l'ensemencement par un lavage avec de l'alcool ; afin d'éviter la chute des poussières, nous opérons sous la protection d'un courant d'air ascendant produit par la flamme d'un gros bec Méker (fig. 7).

Nous n'insisterons pas sur le détail des opérations de mise en culture qui sont maintenant bien connues. Rappelons brièvement que l'on élimine la partie superficielle des tubercules, nécrosée par l'action de l'hypochlorite de calcium ; les tubercules sont ensuite débités en prismes de dimensions convenables ; étant donné que certaines de nos recherches comportent l'étude de modifications histologiques polarisées, nous apportons le plus grand soin à repérer l'extrémité foliaire (celle qui est tournée vers les feuilles lorsque l'explantat fait encore partie du tubercule) et l'extrémité radicale des fragments prélevés. Les explantats ainsi préparés sont, ensuite, transportés aseptiquement dans les tubes contenant le milieu de culture.

Dans certains cas, on obture ces tubes avec un capuchon de papier d'étain dans le but d'assurer un état hygrométrique très voisin de la saturation à l'intérieur du récipient de culture, et d'éviter, de ce fait, une dessiccation trop rapide du milieu qui pourrait nuire au développement des cultures.

Les tubes ensemencés sont ensuite transportés, soit dans une pièce claire à température constante, soit dans une étuve obscure réglée, elle aussi, à température constante.

C₁ — Particularités techniques relatives au prélèvement des différents tissus

a) ENDIVE

Nous avons pratiqué l'ensemencement de fragments de tissus de racines de diverses variétés de Chicorée cultivées (*Cichorium intybus* L. var.). Nous nous bornerons à indiquer de quelle manière furent prélevées les différentes sortes d'explantats sur lesquels nous avons travaillé.

Tout d'abord, les tubercules sont stérilisés par un séjour de quarante

minutes environ dans une solution d'hypochlorite de calcium, ce qui a pour effet de tuer les tissus superficiels sur une épaisseur d'environ 2 mm., et de détruire, en même temps, les microorganismes qu'ils renferment.

Dans certaines expériences, nous ensemençons des prismes comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus ; l'épaisseur de ces prismes varie entre quelques millimètres et 2 cm. 5, selon les recherches envisagées.

D'autres fois, nous isolons des fragments de parenchyme vasculaire. Pour cela, nous employons la technique générale décrite par GAUTHERET (1942). Voici l'essentiel de cette technique : un tubercule épluché est, tout d'abord, débité en cylindres épais d'environ 2 cm. que l'on fend longitudinalement en deux ; on repère la zone cambiale, claire, sinueuse, et l'on enfonce verticalement un bistouri au niveau de celle-ci, c'est-à-dire entre le parenchyme vasculaire et le liber. En tournant le bistouri, on décolle ces deux tissus. De cette manière, on sépare la partie externe, en forme de demi cylindre évidé, qui comprend le parenchyme libérien, tapissé intérieurement par la zone génératrice, de la partie interne constituée uniquement de parenchyme vasculaire. On fragmente, ensuite, cette partie interne en prismes de section convenable (fig. 8).

Les explantats ainsi préparés sont ensemencés dans le milieu type décrit ci-dessus, additionné de 2 % de glucose, et solidifié par 1,2 % de gélose. Les récipients de culture contenant les fragments sont ensuite transportés, soit dans une étuve obscure réglée à 22°, soit dans une enceinte claire maintenue à la même température.

b) CRAMBE MARITIME

Nous avons pratiqué l'ensemencement de fragments de rhizomes de Chou maritime (*Crambe maritima* L.).

La durée de stérilisation des tubercules est réduite, dans ce cas, à trente minutes environ ; en effet, le liber est très mince et un traitement prolongé risque de le tuer complètement.

Les explantats comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus, sont prélevés comme dans le cas de l'Endive, puis ensemencés dans un milieu additionné de 2 % de glucose et solidifié par 1,2 % de gélose. Les tubes contenant les fragments sont maintenus à la lumière à une température de 22°.

En raison de la faible durée du passage des tubercules dans l'hypochlorite, la désinfection est souvent insuffisante ; aussi, de nombreuses cultures s'infectent-elles, ce qui contraint à pratiquer un très grand nombre d'ensemencements.

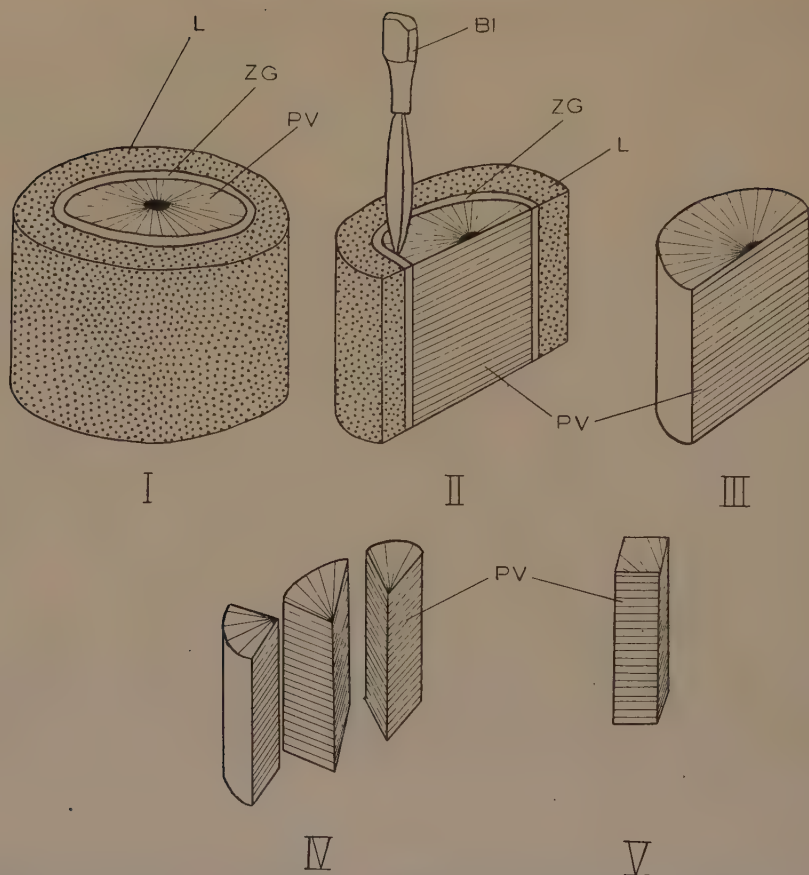


Fig. 8. — Schéma représentant le prélèvement de fragments de parenchyme vasculaire d'Endive.

I) L'organe, préalablement stérilisé, est épluché, puis débité en tranches épaisses de deux centimètres environ, qu'on oriente d'une manière déterminée, en plaçant, par exemple, leur face foliaire (supérieure), vers le haut.

L : Liber ; PV : Parenchyme vasculaire ; ZG : Zone génératrice.

II) Les tranches sont divisées en demi-cylindres ; on introduit la pointe d'un bistouri (BI) entre le liber et le parenchyme vasculaire, en maintenant l'instrument bien vertical et en veillant à ce que sa lame soit tangente à la zone génératrice. En tournant légèrement le bistouri, on sépare le parenchyme vasculaire du liber.

III) Après l'opération précédente, on obtient un demi-cylindre évidé de liber dont la paroi concave est tapissée par le tissu cambial, et un demi-cylindre de parenchyme vasculaire.

IV) Ce demi-cylindre de parenchyme vasculaire est divisé en 3 ou 4 fragments. On élimine celui de gauche correspondant à la région écrasée par le bistouri.

V) On régularise, ensuite, la forme des fragments, qui sont alors prêts pour l'ensemencement. Il est important, au cours des opérations successives, de ne pas modifier l'orientation des tissus, de manière à pouvoir enfoncer, avec certitude, dans le milieu, soit l'extrémité supérieure, soit l'extrémité inférieure des explants, selon l'expérience effectuée.

c) SCORSONÈRE

Nous avonsensemencé des fragments de tissus prélevés dans des racines de Scorsonère (*Scorzonera hispanica* L. var.). Ces racines possèdent, elles aussi, un liber mince, et qui contient, en général, de nombreux micro-organismes.

La durée de stérilisation pratiquée est d'une heure environ. Dans ces conditions, la pénétration du désinfectant est très profonde et on élimine, lors de l'épluchage final, la totalité du liber et la zone génératrice.

Les explantats, ensemencés dans un milieu glucosé à 2 % et solidifié par 1,2 % de gélose, sont donc constitués uniquement par du parenchyme vasculaire. Les tubes contenant les cultures sont placés à la lumière et maintenus à une température de 22°.

III. — Mise en culture du tissu cambial d'Orme

GAUTHERET a imaginé une méthode de mise en culture du tissu cambial d'Orme, comportant la réalisation d'opérations aseptiques sur le terrain et qu'il a longuement décrite dans son Manuel Technique (1942). Nous l'avons appliquée à différentes variétés d'Orme (*Ulmus campestris* L.), parmi lesquelles nous avons choisi celle dont le cambium nous a paru bourgeonner le plus facilement *in vitro*. Toutefois, cette technique présentait certains inconvénients dus à ce que le prélèvement s'effectue en forêt ; aussi avons-nous été amené à mettre au point une autre méthode permettant de travailler au laboratoire. Nous allons décrire successivement ces deux procédés.

A. — Méthode de Gautheret

Le prélèvement devant avoir lieu en forêt, il est indispensable de disposer d'un matériel approprié, que l'on transporte jusqu'à l'endroit choisi. Ce matériel comprend : une table pliante, un bec Meker équipé pour fonctionner au gaz butane, des instruments de chirurgie spéciaux, ainsi que les milieux de culture et de l'alcool.

On repère un Orme de grosseur convenable (15 à 20 cm. de diamètre) et très rameux à la base (1), dont on désinfecte le tronc sur une grande surface en le lavant largement à l'alcool. Puis, à l'aide d'un couteau spécial à deux manches, on élimine, par petits copeaux, les régions superficielles de l'écorce, jusqu'à ce que l'épaisseur de liber subsistant n'excède

(1) Les recherches de GAUTHERET ont en effet montré que, parmi les nombreuses variétés d'Orme, celles qui sont susceptibles de produire normalement de nombreux rejets et rameaux possèdent également la faculté de régénérer un plus grand nombre de bourgeons *in vitro*.

pas 1 à 2 mm. On pratique alors, à l'aide d'un bistouri bien pointu, deux systèmes d'incisions perpendiculaires délimitant des rectangles d'environ 2,5 cm. de haut sur 1 cm. de large, et à l'aide d'une pince fine, on arrache successivement tous les fragments ainsi préparés. Ceux-ci sont dissymétriques et comportent, sur leur face interne, le tissu cambial qui a été décollé en même temps que le liber. Les explantats sont enfin posés à la surface du milieu de culture de façon telle que la zone génératrice soit située à l'air libre.

La composition du milieu que nous utilisons a été choisie en tenant compte des recherches effectuées sur le bourgeonnement par GAUTHERET (1942). Cet auteur constate un maximum de néoformation de bourgeons lorsque le milieu contient 1,5 % de glucose, et il observe, en outre, une action favorisante de l'humidité. En conséquence, nos milieux sont glucosés à 1,5 %, puis gélosés à 1 % seulement. La faible teneur en gélose du milieu permet à celui-ci de céder sans difficultés une importante quantité d'eau, ce qui assure un degré hygrométrique élevé à l'intérieur des récipients de culture. Les tubesensemencés sont ensuite transportés dans une enceinte claire à 22°, car la lumière est indispensable au développement des ébauches en tiges feuillées.

B. — Méthode d'ensemencement au laboratoire

En raison des difficultés que présentait, pendant la guerre, le transport sur le terrain d'un matériel aussi lourd et aussi volumineux que celui nécessité par la méthode de GAUTHERET, nous avons dû mettre au point une technique d'ensemencement au laboratoire.

Le matin même des prélèvements, on choisit en forêt un Orme de dimension convenable, que l'on fait abattre et débiter en bûches d'un mètre de long environ ; ces bûches sont ramenées au laboratoire, et soigneusement désinfectées à l'alcool à plusieurs reprises sur toute leur surface ; le tronc d'arbre est alors posé sur la pailleasse, une extrémité appuyée contre le mur de la salle d'ensemencement, et l'autre extrémité contre l'opérateur ; il est ensuite écorcé partiellement à l'aide d'un couteau à deux manches. On pratique plusieurs lavages successifs à l'alcool au cours de cette opération, puis, à l'aide d'un bistouri, on délimite dans le liber restant de grandes bandes ayant comme longueur celle de la région écorcée, et comme largeur celle que l'on désire donner aux explantats définitifs. A l'aide d'une pince, on arrache tous les rubans de liber portant sur leur face interne la zone génératrice de l'arbre, et on les dépose entre des feuilles de papier stérile. On fragmente ensuite ces rubans, et on transporte les petits rectangles ainsi obtenus dans le même milieu de culture que précédemment.

Cette technique permet d'obtenir 80 à 85 % de cultures stériles, alors qu'avec la méthode de GAUTHERET le rendement oscille entre 50 à 75 %, selon les conditions atmosphériques.

CHAPITRE II

TECHNIQUES DE GREFFAGE DE BOURGEONS SUR DES FRAGMENTS DE TISSUS CULTIVES IN VITRO

Le greffage consiste à fixer un fragment d'organisme sur un autre organisme, de telle sorte qu'il puisse continuer son développement. Chez les végétaux, cette opération se pratique habituellement en transplantant un fragment de tissu pourvu d'un bourgeon sur une tige dont le cambium a été mis à nu. Si le greffage est réussi, les tissus mis en contact se soudent et le bourgeon se développe. Cette opération, très fréquente en horticulture, n'avait jamais été réalisée *in vitro*. Les premières tentatives que nous avons effectuées dans ce but ont été très décevantes, car nous avons rencontré de nombreuses difficultés ; souvent la soudure se réalisait mal ; d'autres fois, la prolifération du sujet, ou les bourgeons néoformés par celui-ci, provoquaient un décollement du greffon. Néanmoins, après de nombreux essais, nous avons mis au point une méthode pleinement satisfaisante, permettant de greffer des bourgeons sur des fragments d'organes charnus, par exemple de racines d'Endive. Nous avons, de même, réussi le greffage de pousses feuillées sur des fragments de tissu cambial d'Orme. Nous examinerons successivement ces deux méthodes. Nous mentionnerons, enfin, une technique très voisine de la greffe proprement dite, et qui nous a permis de faire agir des bourgeons sur différents tissus en les isolant de ceux-ci par une pellicule perméable.

I. — Greffage de bourgeons sur des fragments de racines d'Endive

Cette méthode est applicable à tous les organes charnus susceptibles de bourgeonner *in vitro*. Nous allons envisager successivement la préparation des greffons, puis celle des sujets, et, enfin, la mise en place des greffons.

A. — Prélèvement des greffons

Des fragments de racine d'Endive sont cultivés aseptiquement à l'obscurité : après une dizaine de jours, ces fragments ont produit des cals volumineux portant de nombreux bourgeons. Lorsque ceux-ci ont atteint une

longueur variant entre 2 et 4 cm., on prépare des greffons comportant chacun un bourgeon ainsi qu'une partie du tissu sous-jacent.

Pour cela, on retire aseptiquement des tubes de culture les fragments sur lesquels on désire effectuer les prélèvements de bourgeons. On les transporte dans des boîtes de Petri stériles. A l'intérieur de celles-ci, et sous la protection du couvercle à demi soulevé, on pratique deux sections dans l'explantat de part et d'autre de la base du bourgeon choisi. Ces deux incisions doivent délimiter un coin très aigu comportant un peu de cal, ainsi que quelques millimètres cubes du tissu préexistant (fig. 9A). On peut prélever

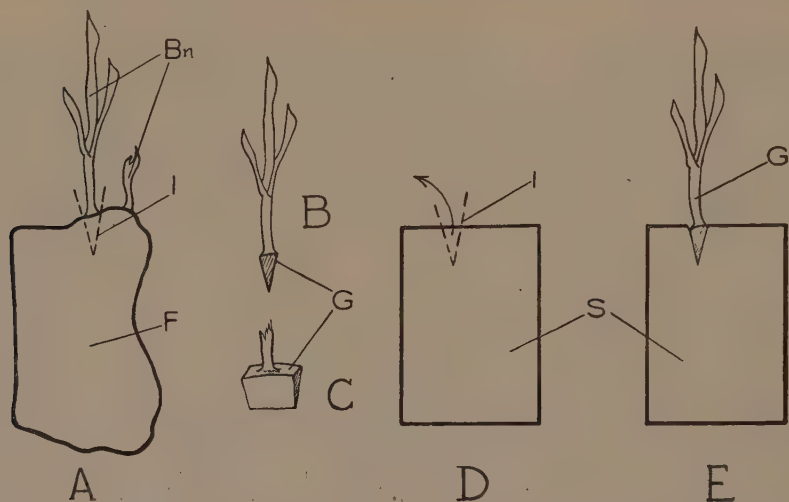


Fig. 9. — Schéma résumant la technique de greffage de bourgeons sur des fragments de racines d'Endive.

A) On prélève un bourgeon néoformé (Bn) sur un fragment de racine (F) en pratiquant deux incisions (I) qui délimitent un coin dans le tissu sous-jacent.

B et C) Observer l'aspect du greffon (G) ainsi obtenu.

D et E) On pratique ensuite une encoche de forme correspondante dans le tissu à greffer et l'on y transporte le greffon. La prolifération du sujet (S) ne tarde pas à maintenir solidement le greffon dans son encoche et assure une suture convenable.

un ou plusieurs greffons (fig. 9 B et C) sur un même explantat, selon le nombre et la position des bourgeons dont il est pourvu. Les greffons ainsi préparés restent dans la boîte de Petri que l'on referme.

B. — Préparation des sujets.

On découpe une racine d'Endive, préalablement stérilisée à l'hypochlorite, en prismes de dimensions convenables. On place chacun des explantats obtenus dans une boîte de Petri, en repérant soigneusement son

extrémité foliaire et son extrémité radicale. Puis, à l'aide d'un bistouri bien affûté, on pratique deux incisions délimitant un coin de forme exactement identique à celle du fragment qui supporte le bourgeon à greffer (fig. 9 D). Selon les conditions expérimentales que l'on désire réaliser, l'orientation des encoches ainsi obtenues est, soit perpendiculaire, soit parallèle à la zone génératrice du sujet.

C. — Greffage.

On rapproche alors la boîte de Pétri contenant les greffons et l'une de celles contenant les sujets. Maintenant le sujet avec une pince, on place, à l'aide d'une autre pince, la base du greffon dans l'encoche préparée pour le recevoir (fig. 9 E). On appuie légèrement la pince sur la portion de tissu qui supporte le bourgeon afin de coincer celle-ci de façon convenable entre

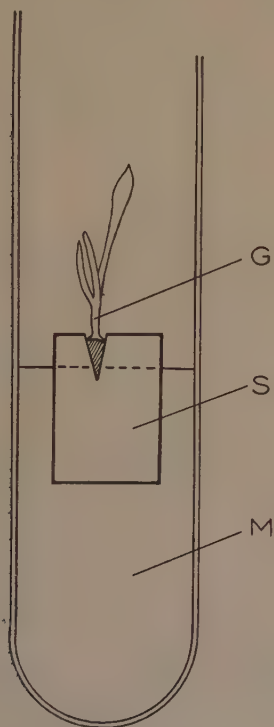


Fig. 10. — Schéma indiquant la position d'un fragment de racine d'Endive, portant un greffon, par rapport au milieu de culture.

La soudure entre le greffon et le sujet se réalise beaucoup mieux si les surfaces en contact sont humectées par le milieu nutritif. Aussi, les sujets (S) sont-ils enfoncés dans le substrat de manière telle que la base de l'encoche portant le greffon (G) soit légèrement en-dessous du niveau du milieu (M), qui s'élève dans l'encoche par capillarité.

les deux lèvres de la plaie pratiquée sur le sujet. On transporte ensuite le prisme portant son greffon dans le tube de culture, en ayant soin de ne pas déplacer le bourgeon.

Nous avons remarqué que si l'on humecte les tissus avec de l'eau distillée ou une solution aqueuse de sulfate de magnésium à 1 %, avant de réa-

liser le greffage, la soudure s'opère mieux que si le greffon et le sujet ne subissent aucun traitement préalable. Mais les résultats sont encore meilleurs lorsque les fragments sont placés de manière telle que les surfaces à souder soient humectées en permanence par le milieu de culture lui-même, s'élevant dans l'encoche par capillarité (fig. 10). De cette façon, on obtient entre 50 et 90 % de réussites, suivant que le greffage est pratiqué sur le parenchyme vasculaire, sur le liber ou au niveau de la zone génératrice des sujets. La soudure s'effectue très rapidement et elle est, en général, réalisée 5 à 6 jours après l'ensemencement des sujets.

II. — Greffage de bourgeons sur des fragments de tissu cambial d'Orme.

Le greffage de bourgeons s'est révélé plus facile sur des fragments de tissu cambial d'Orme, que sur les prismes de racines d'Endive. Cette facilité relative résulte du fait que le tissu cambial d'Orme prolifère plus lentement et plus régulièrement que les tissus d'Endive et tient aussi à ce qu'il bourgeonne plus tardivement. Nous envisagerons le prélèvement des greffons, puis celui des sujets, et enfin le greffage proprement dit.

A. — Prélèvement des greffons.

On cultive des fragments de tissu cambial d'Orme à la lumière, jusqu'à ce qu'ils aient produit des ébauches de bourgeons. Celles-ci évoluent en

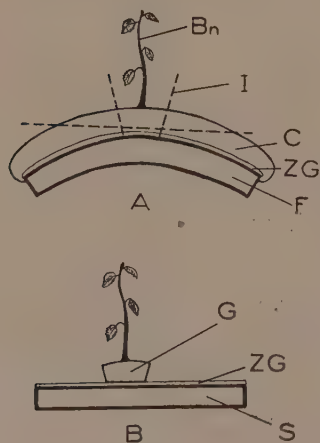


Fig. 11. — Schéma résumant la technique de greffage de bourgeons sur des fragments de tissu cambial d'Orme.

A) On pratique, dans le cal (C) produit par un fragment de tissu cambial d'Orme (F) après un mois de culture, une série d'incisions (I) autour d'une tige feuillée (Bn). On obtient ainsi une mince lame de tissu néoformé portant le bourgeon à greffer.

On prépare ensuite des sujets consistant en fragments de tissu cambial d'Orme prélevés sur un tronc fraîchement coupé.

B) On transporte alors les greffons (G) sur la zone génératrice (ZG) des sujets (S), et l'on place enfin les explantats ainsi greffés à la surface du milieu de culture, de manière telle que leur face cambiale soit située à l'opposé du substrat.

tiges feuillées qui, après quatre semaines de culture, atteignent environ 1 cm. de long.

On découpe alors aseptiquement une très mince lame de tissu néoformé

portant la jeune tige à greffer et on la dépose dans une boîte de Pétri (fig. 11 A). Ce fragment constitue un greffon.

B. — Préparation des sujets.

On prélève ensuite des fragments de tissu cambial d'Orme et on place chacun d'eux dans une boîte de Pétri.

C. — Greffage.

On transporte alors, avec les mêmes précautions que dans le cas de l'Endive, les greffons sur la face cambiale des explantats ainsi préparés (fig. 11 B). Les greffons adhèrent de façon suffisante au sujet, car le cambium des lames fraîchement prélevées est humide et légèrement gluant. Les sujets, ainsi greffés, sont enfin placés à la surface du milieu nutritif et on les enferme dans une étuve maintenue à la température de 22°. Dans ces conditions, on obtient des soudures satisfaisantes dix jours après la réalisation des greffes.

III. — Mise en place d'un film perméable entre le greffon et le sujet.

Afin de déterminer si l'influence histogène des bourgeons fait intervenir un mécanisme humoral, nous avons été amené à interposer, entre le bourgeon et le sujet, une mince pellicule de substance perméable empêchant la soudure des tissus de s'effectuer, sans gêner toutefois le transport des substances diffusibles.

Nous avons réalisé des essais en utilisant comme film perméable, soit une pellicule de cellophane, soit une mince pellicule de gélose.

A. — Pellicule de cellophane.

La cellophane est vendue dans le commerce sous forme de feuilles très minces (environ 100 μ). Du point de vue chimique, elle est constituée par de la viscose ou xanthate de cellulose ; nous l'avons considérée comme aseptique en raison des traitements subis au cours de sa fabrication industrielle, et de fait, le pourcentage d'infection des explantats en contact avec cette substance n'a pas été plus élevé que d'habitude.

La technique utilisée pour interposer ce film perméable entre le bourgeon et le tissu sur lequel on veut le faire agir n'est qu'une variante de la méthode normale de greffe des organes charnus. Voici comment nous pratiquons :

Après avoir préparé, ainsi que nous l'avons indiqué plus haut, une série de boîtes de Pétri contenant des greffons et une autre série contenant des sujets, on découpe aseptiquement des feuilles de cellophane en rectangles de 1,5 cm. $\times$ 1 cm. On place alors un de ces petits rectangles sur un sujet et on lui fait épouser exactement la forme de l'encoche en appuyant en son milieu avec un scalpel (fig. 12 A). La cellophane, très hygroscopique, colle aux deux lèvres de la plaie, et il est alors possible d'insérer le greffon dans la cavité ainsi tapissée et isolée par cette mince pellicule perméable

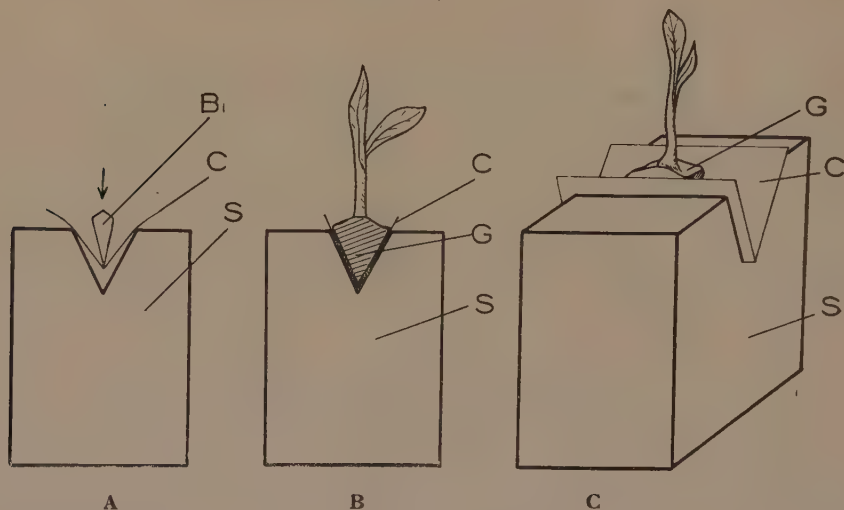


Fig. 12. — Mise en place d'un film de cellophane entre le greffon et le sujet.

On prépare des greffons et une série de sujets portant des encoches correspondantes, sur leur extrémité foliaire. On découpe ensuite aseptiquement des rectangles de cellophane mesurant environ 1,5 $\times$ 1 cm.

A) On place un de ces fragments de cellophane (C) sur un sujet (S) et on lui fait épouser exactement la forme de l'encoche en l'enfonçant avec un bistouri (Bi). La cellophane, très hygroscopique, adhère aux deux bords de la cavité et épouse exactement sa forme. Il ne reste plus qu'à insérer le greffon (G), dans l'encoche ainsi préparée.

B et C) Ces deux schémas représentent, en coupe et en perspective, le sujet portant un greffon isolé par de la cellophane. Les explantats sont ensuite transportés, avec précaution, dans les tubes de culture. On les enfonce très légèrement dans le milieu, de manière à ce que celui-ci ne puisse venir humecter la cellophane en s'élevant par capillarité.

(fig. 12 B. C). Après avoir reçu les explantats ainsi préparés, les récipients de culture sont transportés dans une étuve obscure, maintenue à une température de 22°.

B. — Pellicule de gélose.

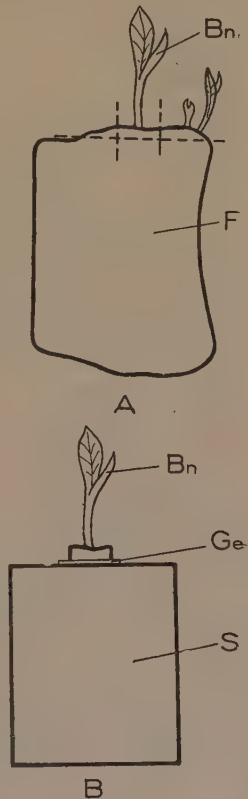
Craignant que la cellophane ne soit pas assez perméable, et dans le but de réaliser des expériences analogues avec une autre substance, nous avons interposé une pellicule de gélose entre le greffon et le sujet. Voici la technique que nous avons employée dans ce cas :

On fait fondre à l'ébullition 3 gr. de gélose dans 100 gr. d'eau distillée.

Fig. 13. — Mise en place d'une pellicule de gélose entre le greffon et le sujet.

A) On pratique, sur un fragment de racine (F) ayant bourgeonné, deux systèmes d'incisions perpendiculaires qui isolent, à la base d'un bourgeon (Bn) un fragment de cal périphérique.

B) On prépare les sujets (S), consistant en fragments de racines ne portant pas d'encoche. Puis, on place sur l'extrémité foliaire de chacun d'eux, un rectangle découpé dans une pellicule de gélose (Ge), de manière telle que la gélose soit à cheval sur le cambium. On pose, ensuite, sur la gélose le fragment de tissu supportant le bourgeon, en appuyant légèrement de manière à assurer une bonne adhérence. Les explantats ainsi préparés sont ensuite transportés dans les récipients de culture : on les enfonce très peu dans le milieu de façon à ce que celui-ci ne puisse s'élever, par capillarité, jusqu'à la gélose isolant le bourgeon.



et on coule quelques gouttes de solution dans une boîte de Pétri, de manière à ce que le fond en soit juste recouvert. L'épaisseur de la lame solide, formée après refroidissement, atteint alors de 0,6 mm. à 0,8 mm. On transporte les boîtes de Pétri dans une étuve maintenue à 50° afin de faire évaporer une partie de l'eau et, partant, de réduire l'épaisseur de la pellicule gélosée. Au bout de six à huit heures, celle-ci possède une épaisseur moyenne de 0,5 mm. et peut alors être utilisée. Comme la pellicule de gélose obtenue dans ces conditions est légèrement cassante, on ne peut songer à utiliser la

même technique d'interposition que pour la cellophane, et il est nécessaire d'opérer les greffages en utilisant des surfaces de contact planes :

Les greffons sont prélevés en pratiquant, sur des cultures de racine d'Endive âgées d'une douzaine de jours, deux systèmes d'incisions perpendiculaires qui laissent subsister, à la base d'un bourgeon, un fragment de cal ayant une forme parallélépipédique (fig. 13 A). Les sujets consistent en fragments ne présentant aucune encoche ; on place à cheval sur la zone génératrice de ceux-ci des rectangles découpés dans la pellicule de gélose et mesurant environ 5 mm. sur 5 de côté ; les greffons sont simplement posés sur ces lames de gélose (fig. 13 B). Une légère pression est suffisante pour assurer une bonne adhérence, et on transporte, avec précaution, les explantats ainsi préparés dans les tubes de culture destinés à cet usage.

Pour éviter une dessiccation trop rapide de la gélose interposée entre les deux fragments de tissus, dessiccation qui entraînerait le flétrissement du bourgeon, on n'obture pas les récipients de culture au coton cardé, mais on recouvre simplement les paniers contenant les tubesensemencés avec du papier stérile. Les paniers sont ensuite transportés dans une enceinte obscure, à une température de 20°, et dans laquelle le degré hygrométrique de l'atmosphère est maintenu à 95 %. Dans ces conditions, on obtient une croissance appréciable des bourgeons greffés pendant les quatre jours que dure l'expérience.

CHAPITRE III

TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

Nous ne pouvions songer à nous servir de coupes à main levée, car nous utilisions des objets très volumineux, qu'il était indispensable de débiter entièrement, afin de pouvoir suivre les remaniements tissulaires se produisant éventuellement sur toute la longueur des fragments. Aussi, avons-nous été conduit à utiliser la méthode des coupes à la paraffine, associée à une technique de coloration appropriée ; nous allons résumer ces manipulations tout à fait classiques :

I. — Fixation, inclusion et coupes

Voici la technique que nous avons suivie :

1° Fixation du matériel dans le liquide de BOVIN (1) pendant une durée de vingt-quatre heures.

2° Lavage à l'alcool à 80° additionné de carbonate de lithium jusqu'à décoloration des objets.

3° Déshydratation à l'alcool éthylique : quatre passages dans l'alcool à 95° : durée totale vingt-quatre heures ; quatre passages dans l'alcool absolu : durée totale vingt-quatre heures.

4° Imprégnation par un solvant de la paraffine.

Elle est faite par le toluène suivant la technique recommandée par LANGERON. Les objets sont passés dans divers bains de solvant jusqu'à ce qu'ils soient parfaitement transparents. Cette manipulation demande de deux heures à sept heures suivant le volume des fragments à inclure.

5° Bains de paraffine et inclusion.

Une fois l'imprégnation terminée, les pièces sont transportées dans un mélange en parties égales de paraffine à 45°-48°, maintenu à une température de 48°. La durée de ce bain est d'environ une heure. On passe

(1) Le fixateur de BOVIN possède la composition suivante :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique	30 cm ³
Formol neutre à 40 %	10 cm ³
Acide acétique cristallisable	1 cm ³

On mélange ces liquides au moment de l'emploi.

ensuite les pièces dans trois bains de la même paraffine à l'état pur, maintenus à une température légèrement supérieure au point de fusion pendant une durée totale de six heures. On procède alors à l'inclusion définitive.

6° Confection des coupes.

On pratique des coupes en série au moyen du microtome de Minot ; l'épaisseur des coupes varie entre 10 et 30 μ selon les cas. On procède ensuite aux opérations suivantes : collage habituel à la gélatine, étalement, séchage, déparaffinage, sur lesquelles nous n'insisterons pas plus longuement.

II. — Coloration

Toutes les coupes, destinées à des études anatomiques, sont traitées par la double coloration au bleu de méthylène aluné et au rouge de ruthénium, préconisée par LANGERON :

Les coupes sont, tout d'abord, plongées pendant deux minutes dans du bleu de méthylène aluné (bleu de méthylène 1, alun 10, eau 100) ; elles sont ensuite lavées à l'eau pendant une à trois minutes, puis laissées en contact avec une solution aqueuse diluée de rouge de ruthénium pendant une durée de trente secondes à une minute. On déshydrate rapidement à l'alcool, puis on passe dans du toluène, et les coupes sont enfin montées dans le baume du Canada.

Après cette coloration, les éléments cellulotiques sont roses, les membranes lignifiées bleues ou vertes, et les sclérenchymes violets ; ces colorations s'altèrent surtout à la lumière : en conservant les coupes à l'obscurité nous avons pu ralentir leur altération et, au bout de trois ans, leurs détails étaient encore perceptibles.

CHAPITRE IV

TECHNIQUES DIVERSES

Nous allons maintenant passer rapidement en revue diverses techniques dont nous nous sommes servi accessoirement au cours de nos recherches.

I. — Détermination de la vitesse de croissance des bourgeons

Au cours de nombreuses expériences, nous avons dû apprécier la vitesse de croissance des bourgeons. Afin d'obtenir des résultats précis, nous avons opéré de la manière suivante :

On trace un repère sur les tubes de culture, de manière à pouvoir les orienter de la même façon au cours des mensurations successives, et l'on établit un croquis sommaire des fragments ensemencés. On maintient ensuite les tubes verticalement, devant une source lumineuse diffuse, de faible intensité et l'on place contre ceux-ci une règle graduée, orientée parallèlement à la direction de croissance des bourgeons, dont on obtient la longueur par lecture directe. On reporte les valeurs obtenues sur les schémas des cultures. Lorsqu'au bout d'un certain temps on veut apprécier l'accroissement des bourgeons, on replace les tubes exactement dans la même orientation que précédemment à l'aide du repère, et l'on mesure les nouvelles longueurs atteintes par les tiges feuillées. Cette opération, répétée en général tous les deux jours, permet d'évaluer d'une façon précise la vitesse de croissance des bourgeons. Avec quelque habitude, l'erreur commise sur une lecture n'excède pas 1 mm., ce qui est négligeable par rapport aux variations individuelles.

II. — Méthodes permettant de faire agir des substances excito-formatrices sur les tissus

Nous avons étudié l'action exercée sur les tissus par diverses substances de croissance synthétiques (1) possédant des effets morphogènes très divers ; nous avons fait agir ces substances sur les tissus, soit à l'état de solution dans le milieu nutritif gélosé, soit incorporées dans une pâte de lanoline.

(1) Les substances que nous avons utilisées proviennent du Boyce Thompson Institute.

A. — Solution dans de la gélose

Nous avons utilisé la méthode d'application maintes fois employée par GAUTHERET au cours de ses recherches sur le transport polarisé des hétéro-auxines.

Cette méthode consiste à ajouter simplement la substance à étudier au milieu de culture bouillant et filtré. On agite soigneusement pour homogénéiser le mélange, puis on le répartit dans les tubes de culture, que l'on stérilise par passage à l'autoclave à 110° pendant vingt minutes. Les différents composés sont expérimentés à la concentration de 10^{-6} , c'est-à-dire que l'on ajoute 1 mgr. de substance par litre de milieu nutritif.

On découpe ensuite des racines d'Endive, préalablement stérilisées, en fragments dont on place l'extrémité foliaire contre le milieu nutritif. Les cultures sont maintenues dans une étuve obscure à une température de 22° .

B. -- Solution dans de la lanoline

Nous avons repris, en les adaptant aux nécessités d'asepsie exigées par nos recherches, la technique imaginée par LAIBACH. Voici la façon dont nous avons opéré :

On chauffe de la lanoline pure à 110° pendant un quart d'heure, afin d'éliminer la plupart des microorganismes qu'elle peut contenir. On dissout alors 15 mgr. de la substance excito-formatrice choisie dans 5 cm.³ d'eau distillée, et l'on émulsionne la solution obtenue avec 5 cm.³ de la lanoline, que l'on a maintenue sur une platine chauffante, à une température d'environ 40° . On obtient ainsi une pâte contenant 0,15 % de substance de croissance (1).

A l'aide d'un bistouri, on prélève un peu de cette pâte à la lanoline et on l'applique sur la face foliaire de fragments de racines d'Endive comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus.

Nous n'avons pas appliqué de pâte sur l'extrémité radicale des fragments, car GAUTHERET a montré que le transport des substances de division ne s'effectue normalement, au sein des tissus, que dans le sens feuille-racine.

Les fragments préparés sont ensuite placés dans les tubes contenant le milieu nutritif et maintenus dans une étuve obscure à une température de 22° .

(1) Nous n'avons employé que cette seule concentration.

III. — Dosage des substances de croissance contenues dans les tissus

Nous avons été amené occasionnellement à doser les quantités de substances de croissance présentes dans des fragments de racines d'Endive cultivés *in vitro*. Ces dosages ont été effectués par la méthode du test-avoine de WENT, qui est basée sur le fait qu'une application unilatérale d'auxine ou d'hétéro-auxine sur un coléoptile d'Avoine décapité, provoque une courbure de celui-ci. La courbure est proportionnelle à la concentration pour des doses de l'ordre de 10^{-8} .

Nous ne donnerons pas ici le détail des manipulations compliquées, ni la description de l'appareillage nécessité par ces dosages. Ceux-ci ont été effectués dans l'installation du Laboratoire, par Mlle KULESCHA, à qui nous tenons à exprimer notre plus vive gratitude.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE PHYSIOLOGIQUE DES ACTIONS MORPHOGÈNES EXERCÉES PAR LES BOURGEONS

Nos recherches sur les phénomènes de morphogénèse conditionnés par les bourgeons ont débuté par des études d'ordre physiologique, analogues à celles réalisées par nos devanciers. Ces études furent effectuées sur des fragments de racine d'Endive (*Cichorium intybus* L. var. Witloof), dont les processus de régénération ont déjà fait l'objet d'études très poussées (SCHOUTEDEN-WERY, KWASNIKOV, GAUTHERET). Nous avons, tout d'abord, vérifié les résultats antérieurement acquis, puis, ce dernier travail étant achevé, nous nous sommes attaché à mettre en œuvre de nouveaux types d'expériences.

Nous commencerons notre description de ces études physiologiques par un bref exposé des phénomènes de régénération que manifestent des fragments de racine d'Endive cultivés *in vitro*.

Puis, nous envisagerons, dans un second chapitre, la question des interactions existant entre la croissance des bourgeons et celle des racines ; en effet, si l'on admet en général que les bourgeons secrètent une hormone régissant la néoformation et la croissance des méristèmes radiculaires, les idées de WENT, qui font intervenir une corrélation du même type pour expliquer l'action favorisante des racines sur la croissance des tiges, sont beaucoup plus controversées. Aussi, avons-nous repris ce problème avec une technique nouvelle.

Le troisième chapitre sera consacré à l'étude de l'action inhibitrice exercée par les bourgeons en voie de croissance active sur le développement des autres bourgeons. Ce phénomène a déjà suscité de nombreuses recherches, mais toutes celles-ci furent effectuées sur des tissus possédant, soit des bourgeons dormants, soit un pouvoir de régénération tel, qu'au cours de l'expérience, ils produisaient des ébauches méristématiques. La localisation des ébauches dormantes ou néoformées ne pouvait être modifiée à volonté, ce qui limitait les possibilités d'expérimentation. Nous avons pensé qu'il serait intéressant de reprendre ce problème, en greffant

des bourgeons à des endroits convenablement choisis sur des tronçons de racine d'Endive cultivés *in vitro*. De cette manière, nous pouvions envisager de faire agir des bourgeons sur n'importe quelle région d'un fragment de tissu, et d'étudier ainsi avec précision l'influence morphogène qu'ils exercent sur les tissus qui les supportent.

Au cours de l'exposé de nos recherches, dans un but de simplification, nous garderons le nom de bourgeon aux formations caulinaires régénérées par les explantats, qu'il s'agisse d'ébauches très petites ou de pousses feuillées déjà bien développées.

CHAPITRE I

RAPPEL DES OBSERVATIONS CLASSIQUES EFFECTUEES SUR LE DEVELOPPEMENT DE FRAGMENTS DE RACINE D'ENDIVE CULTIVES *IN VITRO*

Nos premières expériences consistèrent à observer le développement de fragments de racine d'Endive ; pour cela, nous avons débité des racines en tranches épaisses de 2 cm. environ, que nous avons ensuite fendues longitudinalement, afin d'obtenir des prismes comportant du liber, du parenchyme vasculaire, et, entre ces deux tissus, un segment de la zone génératrice libéro-ligneuse.

Nous avons placé ces explantats horizontalement à la surface d'un milieu de culture, afin que l'action exercée par celui-ci soit identique sur les extrémités foliaire et radicale ; de cette manière, la polarité naturelle des tissus pouvait se manifester librement.

Dès les premiers jours suivant l'isolement, on voyait apparaître quelques racines dont la répartition était tout à fait quelconque, et qui provenaient du développement d'ébauches préexistantes. Puis, quelques jours plus tard, la région radicale des fragments produisait un cal volumineux, tandis que l'extrémité opposée ne proliférait que faiblement. Vers le dixième jour après la mise en culture des ébauches de bourgeons s'édifiaient dans les tissus. Celles-ci apparaissaient en des régions diverses de l'explantat aussi bien au niveau de l'extrémité foliaire que sur l'extrémité radicale ; mais, par la suite, on constatait que leur développement était nettement asymétrique : en effet, seuls les bourgeons apparus dans la région foliaire évoluaient en tiges feuillées, tandis que les ébauches différenciées au niveau de l'extrémité radicale restaient à peine perceptibles à la surface du cal. Enfin, lorsque les bourgeons foliaires étaient bien développés, c'est-à-dire au bout d'un mois environ, on assistait à la néoformation de racines qui, cette fois, au lieu d'être réparties d'une manière quelconque, étaient localisées dans la région radicale des explantats. La figure 14 résume le développement d'un tel explantat. Nous n'avons pas fait figurer sur les schémas, pour des raisons de clarté, les premières racines formées dérivant de méristèmes préexistants.

Si l'on cultive maintenant des fragments de racine identiques aux pré-

cédents, mais orientés de façon telle que leur extrémité foliaire, ou leur extrémité radicale, soit légèrement enfoncée dans le substrat, les phénomènes de régénération s'opèrent d'une manière sensiblement différente.

Lorsque l'extrémité radicale des explantats était appliquée contre la gélose, elle produisait un cal, tandis que la région foliaire donnait naissance à des tiges feuillées. Quand, au contraire, la face foliaire était enfoncée dans le substratum, elle ne produisait que très peu ou pas de bourgeons visibles, tandis qu'il s'en développait uniquement sur le cal radical, isolé cette fois du milieu de culture. Le contact du milieu exerce donc

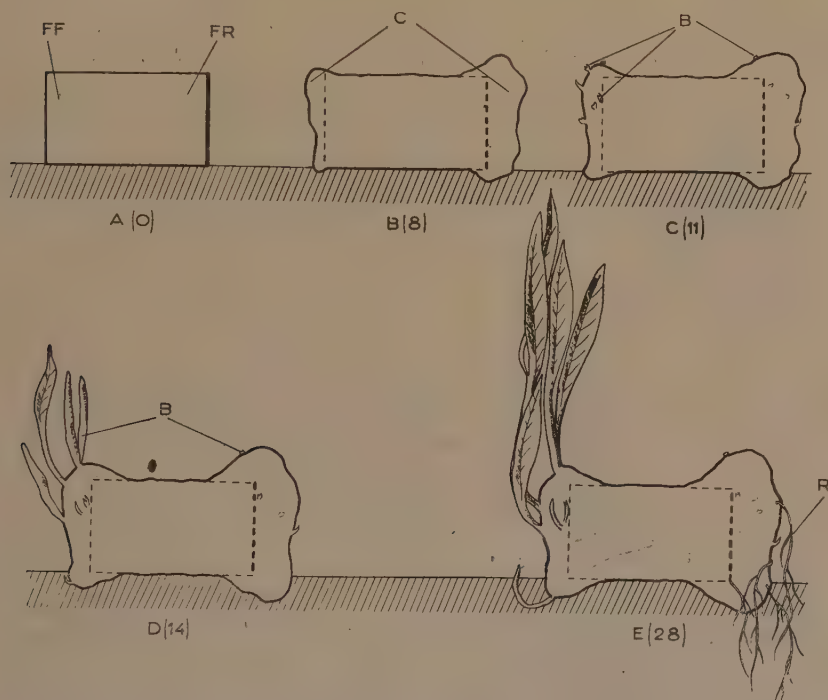


Fig. 14. — Schéma représentant le développement d'un fragment de racine d'Endive couché horizontalement à la surface du milieu.

Couchons horizontalement un fragment de racine à la surface du milieu (fig. A). Dans ces conditions, la polarité normale se manifeste librement, et au bout de huit jours (fig. B), on constate que la région radicale du fragment (représentée par un trait épais) donne naissance à un cal (C) plus volumineux que celui qui se développe au niveau de l'extrémité foliaire (F.). Vers le onzième jour (fig. C), il apparaît des bourgeons (B), répartis d'une manière quelconque, à la surface de l'explantat, mais dont le développement est nettement polarisé. On remarque, en effet, que seuls les bourgeons différenciés dans la région foliaire évoluent en tiges feuillées, tandis que ceux portés par l'extrémité opposée du fragment restent très petit (fig. D et E). Enfin, lorsque ces bourgeons sont déjà bien développés, on voit apparaître des racines (R) qui sont localisées strictement dans la région radicale du prisme (fig. E).

une influence inhibitrice considérable sur la croissance des bourgeons, sans modifier la formation des cals.



Fig. 15. — Fragment de racine d'Endive ayant été cultivé pendant 28 jours dans une position telle que son extrémité radicale soit appliquée contre le milieu.

La face foliaire, qui est ici tournée vers le haut, a produit de vigoureuses pousses feuillées, tandis que l'extrémité radicale, immergée dans le milieu, a donné naissance à un système racinaire bien développé.

Enfin, lorsque les pousses feuillées formées par l'extrémité foliaire (isolée du milieu) étaient bien développées, on voyait apparaître des racines

dans la région radicale des explantats. Ces racines s'allongeaient et se ramifiaient dans le milieu (fig. 15). Par contre, il n'apparaissait jamais de racines sur l'extrémité foliaire, lorsque celle-ci était immergée et que la région opposée avait donné naissance à des bourgeons en voie de croissance active (fig. 16).

Fig. 16. — Fragment de racine d'Endive ayant été cultivé pendant 28 jours dans une position telle que son extrémité foliaire soit au contact du milieu.

De nombreux bourgeons se sont formés, au niveau de l'extrémité radicale, et latéralement. Toutefois, une comparaison avec la figure précédente, qui représente un prisme orienté inversement par rapport au milieu, montre que ces bourgeons se développent beaucoup moins activement que ceux qui naissent dans la région foliaire.



Cet ensemble de résultats montre déjà que :

1° Les bourgeons en voie de croissance sont susceptibles d'inhiber le développement d'autres bourgeons et que cette influence s'exerce dans le sens feuille-racine.

2° Les bourgeons conditionnent la néoformation des méristèmes radiculaires.

3° Le contact du milieu de culture est susceptible de modifier la polarité apparente des explantats.

GAUTHERET, qui a déjà signalé ces résultats en 1944, a, en outre, effectué d'autres types d'expériences concernant les processus de corrélation. Il a montré, par exemple, en mutilant plus ou moins complètement les tiges feuillées néoformées par un fragment de racine de grande taille que, dans certains cas, l'action inhibitrice peut s'exercer dans toute les directions. Enfin, il n'a pas constaté que les méristèmes radiculaires peuvent favoriser la croissance des tiges feuillées, contrairement à l'opinion de WENT.

Nous allons exposer maintenant les résultats que nous avons obtenus en expérimentant sur ce matériel avec des techniques que nous avons imaginées.

CHAPITRE II

ETUDE DES CORRELATIONS ENTRE LA CROISSANCE DES BOURGEONS ET CELLE DES RACINES

En opérant sur des explantats comparables à ceux sur lesquels GAUTHERET avait expérimenté, nous avons retrouvé tous les résultats de cet auteur. Nos observations nous ont suggéré de réduire les dimensions des explantats portant des bourgeons, afin de diminuer la distance séparant la base de ces organes de l'endroit où apparaissent les racines. De cette manière, au cas où les racines élaboreraient effectivement une substance favorisant la croissance des tiges (caulocaline), celle-ci risquerait moins d'être détruite ou inactivée au cours de son transport, puisque l'épaisseur des



Fig. 17. — Fragment de tissu prélevé sur l'extrémité foliaire d'un prisme de racine d'Endive ayant bourgeonné, douze jours après avoir été transporté dans un nouveau milieu de culture.

Prélevons sur l'extrémité foliaire d'un explantat ayant bourgeonné, un fragment de tissu en forme de coin portant un bourgeon, et enfonçons-le dans un milieu nutritif. On constate que le bourgeon s'accroît considérablement et qu'il apparaît des racines à la base du coin, au bout de dix jours environ. Par contre, si le prélèvement est effectué sur l'extrémité radicale d'un explantat, le fragment ne produit jamais de racines, bien que la tige feuillée qu'il porte se développe aussi activement que précédemment.

tissus qu'elle aurait à traverser serait plus faible. D'autre part, comme nous souhaitions effectuer une étude quantitative précise des processus de rhizogénèse, nous avons opéré avec des fragments portant chacun un seul bourgeon. Voici la technique que nous avons utilisée :

Nous avons prélevé, sur un explantat ayant bourgeonné, un mince fragment de tissu en forme de coin portant une tige feuillée, longue d'environ 4 cm. (voir fig. 9 A B C). Le fragment de tissu situé à la base de la pousse et dont la hauteur n'excédait pas 3 à 4 mm. était ensuite enfoncé dans un milieu nutritif ; on conservait les cultures ainsi préparées dans une étuve obscure maintenue à une température de 22°.

Nous avons préparé simultanément deux séries de ces tiges feuillées, les unes prélevées sur l'extrémité foliaire, les autres sur l'extrémité radicale de fragments de racine qui avaient été convenablement orientés, et nous avons suivi leur développement.

Les résultats ont été différents suivant qu'il s'agissait de fragments

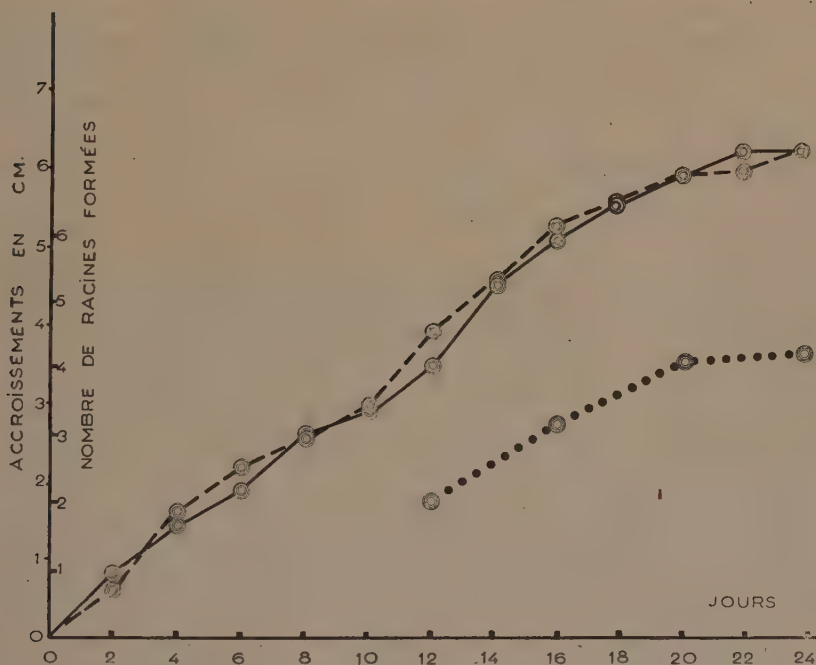


Fig. 18. — Graphique résumant l'accroissement de bourgeons supportés par un mince fragment de tissu prélevé, soit sur l'extrémité foliaire, soit sur l'extrémité radicale de prismes de racine d'*Endive* ayant bourgeonné, ainsi que le nombre de racines formées sous leur influence.

Courbe en trait plein : Accroissement des bourgeons supportés par de minces lames de tissu prélevées dans la région foliaire d'explantats ayant bourgeonné.

Courbe en tirets : Accroissement des bourgeons supportés par de minces lames de tissu prélevées dans la région radicale d'explantats ayant bourgeonné.

Courbe en pointillé : Nombre de racines formées sous l'influence des bourgeons supportés par de minces lames de tissu prélevées dans la région foliaire de fragments ayant bourgeonné.

Il n'apparaît jamais de racines sur les fragments de tissus prélevés dans la région radicale.

prélevés sur la face foliaire ou sur la face radicale des explantats primaires. En effet, dans le premier cas, des racines apparaissent vers le dixième jour à la base du fragment de tissu supportant les bourgeons (fig. 17), tandis que, dans le second, les bourgeons n'induisaient jamais la formation de racines.

Nous avons mesuré périodiquement l'accroissement des tiges feuillées et compté le nombre des racines néoformées.

Le graphique ci-contre (fig. 18), qui résume l'ensemble de nos observations, montre que les bourgeons supportés, soit par un fragment de cal foliaire, soit par une lame de tissu radical, présentent, aux erreurs expérimentales près, des vitesses d'accroissement absolument identiques pendant toute la durée de l'expérience.

On peut remarquer aussi que le nombre moyen des racines néoformées par les explantats prélevés sur la région foliaire augmente proportionnellement au temps jusqu'au vingtième jour, pour rester ensuite stationnaire, bien que la croissance des tiges feuillées se poursuive encore très activement.

Examinons maintenant les conclusions que nous suggèrent ces résultats :

1° La croissance des bourgeons agit de façon très nette sur la formation des racines, ce qui s'accorde avec nos résultats antérieurs et ceux obtenus par VAN DER LEK, BOUILLENNE et WENT, GAUTHERET, etc... Toutefois, il semble que l'induction rhizogène ne puisse se transmettre que dans le sens feuille-racine au sein des explantats, puisqu'il n'apparaît jamais de méristèmes radiculaires à la base des minces fragments prélevés sur l'extrémité radicale de prismes ayant bourgeonné. Nous verrons ultérieurement que la comparaison des structures anatomiques des cals foliaires et radicaux permet d'étayer cette hypothèse.

2° Les racines apparaissent sur les explantats utilisés au cours de cette expérience (quelques millimètres d'épaisseur) beaucoup plus tôt que sur des fragments épais de 2 à 3 cm. Nous verrons plus loin que des études anatomiques permettent d'expliquer cette différence (p. 87).

3° Après un certain temps, le nombre de racines néoformées n'augmente plus, bien que la croissance foliaire ne se ralentisse pas. Ce résultat confirme l'opinion de BOUILLENNE; on peut penser, avec cet auteur, que toute la rhizocaline fixée, contenue dans les tissus supportant le bourgeon est épuisée au bout du vingtième jour, la quantité de facteur rhizogène ne pouvant augmenter, puisque les bourgeons n'en synthétisent pas à l'obscurité.

4° Enfin, pour ce matériel tout au moins, on constate que les racines n'influencent pas d'une façon quelconque la croissance des tiges feuillées, ce qui confirme les observations de GAUTHERET, mais ne concorde, ni avec celles de WENT sur le Pois, ni avec celles de DE ROPP sur le Seigle.

CHAPITRE III

ETUDE DE L'INFLUENCE INHIBITRICE EXERCÉE PAR DES BOURGEONS GREFFES SUR LA CROISSANCE DES BOURGEONS NEOFORMES

Nous avons considéré, tout d'abord, l'intensité de l'inhibition exercée localement par des tiges feuillées greffées, puis celle de l'inhibition exercée sur une des extrémités d'un explantat par des bourgeons greffés sur l'autre extrémité.

I. — Influence exercée localement par des bourgeons greffés

Pour étudier l'influence exercée localement par des bourgeons greffés sur des fragments de racine d'Endive, il était nécessaire de contrarier d'une manière quelconque le développement des ébauches produites normalement par les autres régions des sujets, afin que leur action antagoniste propre ne risque pas de se superposer à celle du greffon, ou de la modifier. Pour cela, nous avons expérimenté sur des explantats enfoncés verticalement dans le milieu de culture, et nous avons greffé des bourgeons sur leur extrémité située à l'opposé du substrat. De cette manière, le milieu inhibait le développement des ébauches édifiées dans les régions immergées.

Nous avons donc greffé des tiges feuillées d'une longueur moyenne de 4 cm., soit sur l'extrémité foliaire, soit sur l'extrémité radicale de fragments de racine d'Endive longs de 3 cm. environ et placés dans les conditions décrites ci-dessus. Nous nous sommes efforcé de faire coïncider les formations conductrices sectionnées du greffon avec la zone génératrice du sujet; ainsi la soudure se réalisait au plus vite et dans les meilleures conditions possibles. Des témoins consistaient en explantats identiques ne portant pas de greffon. Nous avons mesuré périodiquement l'accroissement des bourgeons greffés, celui des ébauches néoformées sur les sujets portant des greffons, et celui des bourgeons produits par des témoins. Les résultats que nous avons obtenus sont schématisés par l'ensemble des courbes ci-contre (fig. 19).

L'examen de ce graphique montre que les bourgeons greffés sur l'extrémité foliaire (courbe 1) et l'extrémité radicale (courbe 2) des explantats

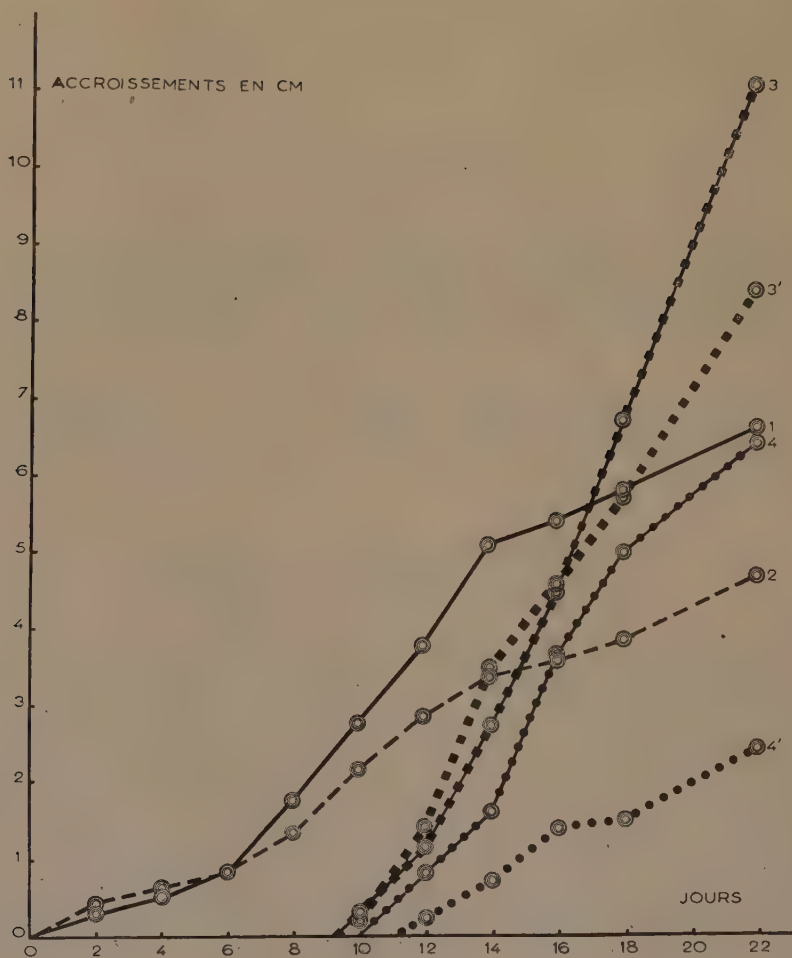


Fig. 19. — Graphique résumant l'accroissement des bourgeons greffés sur des fragments de racine d'Endive cultivés in vitro, ainsi que l'action locale qu'exercent ces greffons sur le développement des ébauches formées ultérieurement par ces fragments.

Courbe 1. — Accroissement d'un bourgeon greffé sur l'extrémité foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

Courbe 2. — Accroissement d'un bourgeon greffé sur l'extrémité radicale d'un fragment de racine d'Endive.

Courbe 3. — Accroissement des bourgeons développés dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive (Témoin).

Courbe 3'. — Accroissement des bourgeons développés au voisinage d'un bourgeon greffé dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

Courbe 4. — Accroissement des bourgeons développés dans la région radicale d'un fragment de racine d'Endive (Témoin).

Courbe 4'. — Accroissement des bourgeons développés au voisinage d'un bourgeon greffé dans la région radicale d'un fragment de racine d'Endive.

ont manifesté tous deux la même vitesse de croissance jusqu'au sixième jour après l'ensemencement.

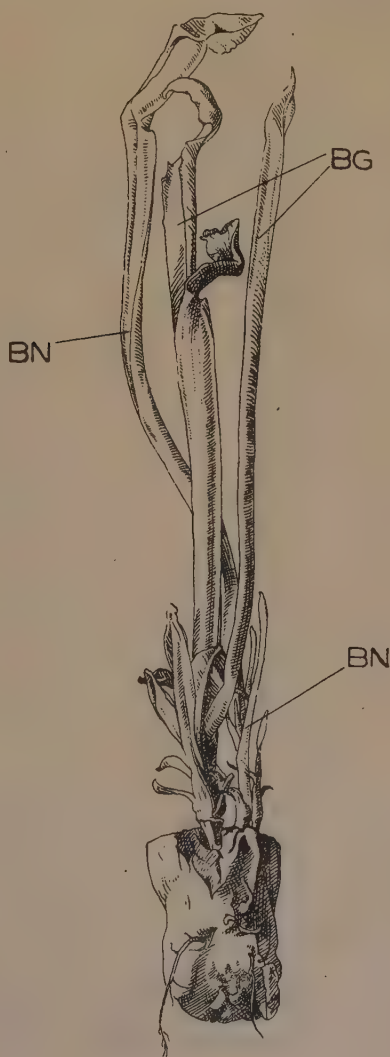
Ultérieurement, il s'est produit un ralentissement notable du développement des bourgeons greffés sur la face radicale des sujets, par rapport à celui des bourgeons déposés sur l'extrémité foliaire (comparer les courbes 1 et 2). Tout se passe donc comme si les tissus du sujet renfermaient un facteur inhibiteur, qui s'accumulerait à l'extrémité radicale de celui-ci, et agirait sur le développement de la tige feuillée greffée au bout de quelques jours de contact.

Cette expérience fournit encore d'autres résultats. On constate, vers le

Fig. 20. — Fragment de racine d'Endive dont la face foliaire porte un bourgeon greffé, après 22 jours de culture.

Greffons une tige feuillée longue de 3 ou 4 cm. sur l'extrémité foliaire d'un fragment de racine d'Endive, dont la face opposée est enfoncée dans le milieu de culture. On constate que le greffon (BG) s'accroît considérablement, et qu'il ne modifie pas le développement des ébauches néoformées (BN) dans son voisinage par le sujet.

Celles-ci atteignent, en effet, des dimensions comparables à celles que présentent les tiges feuillées produites par l'extrémité foliaire d'explantats non greffés.



dixième jour après l'ensemencement, que les sujets, dont la face foliaire est greffée, produisent des bourgeons au voisinage immédiat du greffon. En suivant la croissance de ces bourgeons néoformés, on remarque (courbe 3') que leur accroissement est pratiquement identique à celui des bourgeons développés sur l'extrémité foliaire de prismes non greffés (courbe 3), c'est-

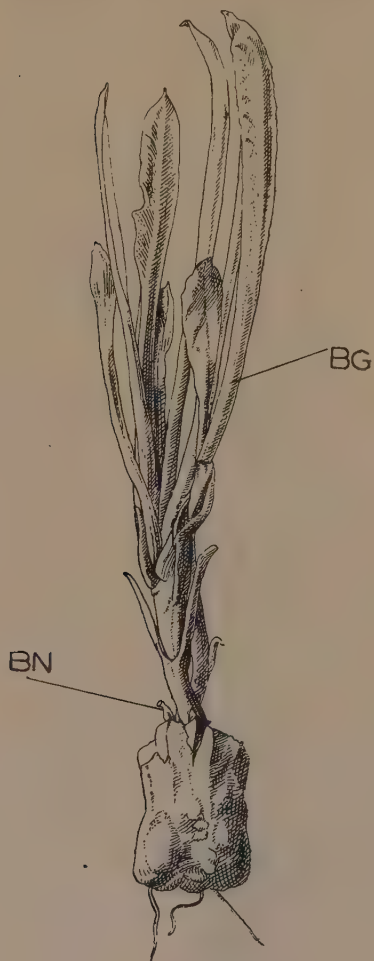


Fig. 21. — Fragment de racine d'Endive dont la région radicale porte un bourgeon greffé, après vingt-deux jours de culture.

Comparer cette figure avec la précédente; on constate qu'une tige feuillée greffée (BG) sur l'extrémité radicale d'un fragment de racine d'Endive dont la face foliaire est immergée dans le substrat, inhibe très fortement le développement des ébauches néoformées (BN) à son voisinage par le sujet. Ce résultat nous permet de supposer que le facteur d'inhibition sécrété par le bourgeon greffé s'accumule sur l'extrémité radicale des explantats, au lieu de stagner dans leur région foliaire.

à-dire des témoins. Ainsi, un greffon déposé sur l'extrémité foliaire d'un explantat ne modifie pas sensiblement les processus d'organogénèse locaux (fig. 20).

Par contre, les explantats dont la région radicale porte un greffon se conduisent d'une manière tout à fait différente : en effet, le greffon exerce une action inhibitrice sur le bourgeonnement des sujets; celui-ci ne produit d'ébauches au voisinage du greffon qu'au bout de 11 jours 1/2, c'est-

à-dire 36 heures après les témoins (courbes 4' et 4). En outre, les bourgeons néoformés dans cette région des sujets se développent plus lentement que ceux qui apparaissent sur l'extrémité correspondante des prismes non greffés. Ce résultat nouveau montre que, non seulement le greffon est capable d'inhiber notablement l'accroissement des ébauches apparaissant spontanément, mais qu'il semble agir, en outre, comme inhibiteur sur leur vitesse de néoformation (fig. 21).

Cette expérience peut s'interpréter de la manière suivante :

1° Il est permis d'imaginer que les tissus du sujet renferment, au moment de l'ensemencement, un facteur inhibiteur qui, quelque temps après l'isolement, s'accumule à l'extrémité radicale de l'explantat, et freine ainsi le développement du bourgeon greffé dans cette région. Le fait que cette action n'est pas immédiate, mais se manifeste seulement à partir du sixième jour, peut s'expliquer, soit en supposant que ce temps est nécessaire pour qu'il y ait une dose suffisante de facteur d'inhibition accumulée dans la région radicale du sujet, soit en admettant, avec PREVOT, qu'il correspond à la durée nécessaire pour l'établissement de liaisons conductrices entre greffon et sujet, liaisons qui permettraient la transmission de l'inhibiteur. Pour résoudre cette question, des études anatomiques paraissent indispensables.

2° On peut admettre, en second lieu, que les greffons sécrètent une substance inhibitrice qui ne stagne pas au pôle foliaire, mais qui s'accumule, par contre, à l'extrémité radicale du porte-greffe ; en effet, les processus d'organogénèse ne sont pas modifiés lorsqu'on greffe un bourgeon sur l'extrémité apicale d'un fragment de racine, tandis que des processus d'antagonisme très marqués se manifestent lorsqu'on greffe une pousse feuillée sur l'extrémité opposée.

Ces résultats semblent indiquer que le facteur d'inhibition se déplacerait d'une manière polarisée au sein des fragments de racine et qu'il ne serait pas utilisé au cours des premiers jours de la culture ; il était indispensable, pour confirmer cette hypothèse, d'apprécier l'intensité de l'action antagoniste exercée à distance par des bourgeons greffés. C'est ce que nous avons tenté de réaliser dans l'expérience suivante.

II. — Influence exercée à distance par des bourgeons greffés

Pour démontrer le transport polarisé du facteur inhibiteur, nous avons étudié l'inhibition exercée sur l'extrémité radicale par des bourgeons déposés sur l'extrémité foliaire de fragments de racine d'Endive. Nous n'avons pas pratiqué de greffage sur l'extrémité radicale, puisque l'étude du développement normal des explantats nous a montré que l'action antagoniste

exercée par des bourgeons néoformés ne se transmet pas dans le sens racine-feuille.

Nous avons donc greffé des bourgeons d'une longueur moyenne de 4 cm. sur l'extrémité foliaire de fragments de racine longs de 3 cm. environ, posés cette fois horizontalement à la surface du milieu nutritif. De cette manière, les deux faces de l'explantat étaient soumises à des condi-

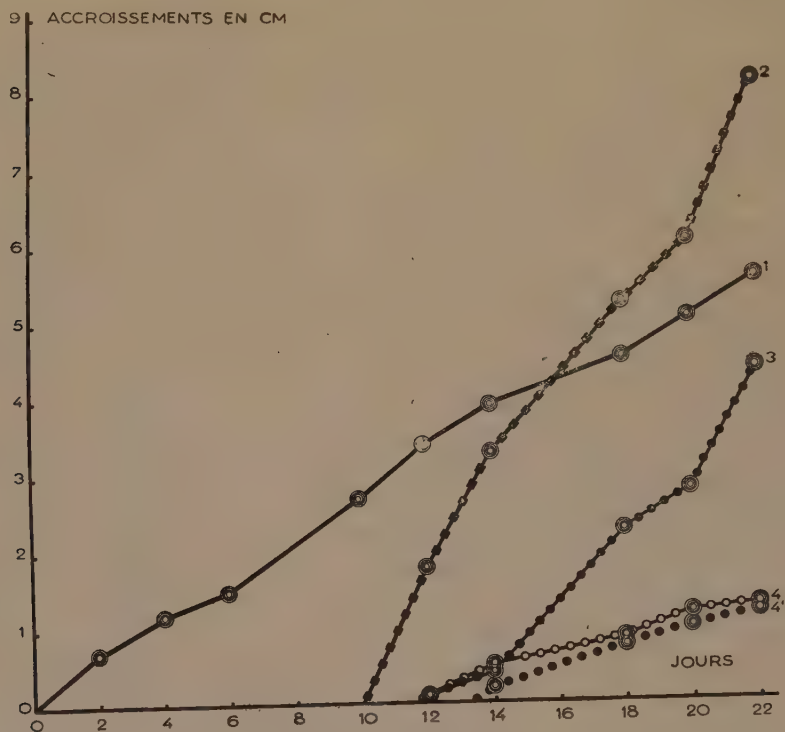


Fig. 22. — Graphique résumant l'accroissement des bourgeons greffés sur l'extrémité foliaire de fragments de racine d'Endive, ainsi que l'action exercée par les greffons sur le développement des ébauches produites par la région radicale des sujets.

Courbe 1. — Accroissement d'un bourgeon greffé sur l'extrémité foliaire d'un fragment de racine d'Endive couché horizontalement à la surface du milieu.

Courbe 2. — Accroissement des bourgeons néoformés dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive non greffé (Témoin).

Courbe 3. — Accroissement des bourgeons néoformés dans la région radicale de fragments non greffés, dont les bourgeons apparus sur l'extrémité foliaire ont été systématiquement éliminés (Témoin).

Courbe 4. — Accroissement des bourgeons néoformés dans la région radicale de fragments non greffés, dont les bourgeons apparus sur l'extrémité foliaire se développent activement (Témoin).

Courbe 4'. — Accroissement des bourgeons néoformés dans la région radicale des explantats dont l'extrémité foliaire porte un bourgeon greffé.

tions physiques identiques, ce qui permettait à leur polarité naturelle de se manifester sans contrainte. Des témoins consistaient en fragments ne portant pas de greffons.

Après dix jours de culture, des bourgeons se développaient dans la région foliaire des prismes greffés et des témoins. Ces bourgeons néoformés sur les fragments greffés étaient éliminés systématiquement, afin que leur influence ne risquât pas de modifier l'action éventuelle du greffon. Des mutilations analogues étaient pratiquées sur la moitié des témoins afin de soustraire, dans ce cas aussi, les bourgeons développés sur l'extrémité radicale à l'inhibition qu'exercent normalement les ébauches produites dans la région foliaire.

Nous avons mesuré périodiquement l'accroissement des bourgeons greffés et néoformés. Le graphique ci-contre (fig. 22) résume les résultats obtenus.

L'examen de ce graphique montre que les bourgeons greffés (courbe 1) et les bourgeons apparus sur l'extrémité foliaire des témoins (courbe 2) présentent un développement approximativement identique à celui des ébauches correspondantes mesurées lors de l'expérience précédente (courbes 1 et 3, fig. 19). Nous ne donnons d'ailleurs ces courbes que pour justifier la comparaison que nous ferons ultérieurement entre les intensités des inhibitions locales et transmises.

Le douzième jour après l'ensemencement, des ébauches apparaissent dans la région radicale de tous les témoins. On observe alors, ainsi que l'on peut s'y attendre, une inhibition très nette du développement des bourgeons produits par les témoins portant des tiges feuillées sur leur face foliaire (courbe 4), par rapport aux ébauches portées par des explantats dont les bourgeons apparus sur la face foliaire ont été sectionnés (courbe 3).

Il apparaît ensuite des ébauches à la surface du cal radical des fragments greffés, mais celles-ci ne deviennent visibles qu'au bout de 13 jours 1/2, c'est-à-dire 36 heures après les témoins. La vitesse de croissance de ces ébauches est très faible (courbe 4'); elle est comparable à celle des bourgeons correspondants, produits par les témoins non mutilés.

Ainsi l'inhibition exercée par un bourgeon greffé est aussi intense que celle obtenue sous l'action d'un grand nombre de pousses feuillées néoformées dans la région foliaire d'un fragment de racine. D'autre part, l'intensité de cette action inhibitrice, transmise à travers les tissus de l'explantat, est aussi intense que celle exercée localement par des bourgeons greffés sur la face radicale.

Ces résultats complémentaires confirment pleinement nos recherches précédentes, et démontrent le transport polarisé au sein de fragments de racine d'Endive d'un facteur inhibiteur produit par les bourgeons. Ils nous permettent d'affirmer, en outre, que ce facteur n'est pas détruit au cours de son transport, et qu'il n'est pas utilisé lors de la prolifération spontanée des tissus en culture.

*
* *

Les diverses expériences physiologiques que nous venons d'exposer permettent d'apporter des précisions nouvelles sur le rôle joué par les bourgeons dans les processus de morphogénèse. Néanmoins, bien des points restent obscurs. Ainsi, par exemple, nous avons remarqué que les racines apparaissent beaucoup plus rapidement sur des explantats de petite taille que sur des fragments très épais, et cette observation ne peut être expliquée par un simple examen morphologique. D'autre part, il reste à rechercher si le délai de six jours, qui s'écoule entre le greffage et le début de l'inhibition qu'exerce le sujet sur un bourgeon greffé dans sa région radicale, ne serait pas indispensable pour l'édification de structures anatomiques particulières qui permettraient au facteur antagoniste de passer de l'un dans l'autre. Enfin, nous n'avons aucune idée sur la nature de l'inhibiteur.

Aussi, en présence de ces difficultés, avons-nous décidé d'abandonner les techniques habituelles de la physiologie. Nous avons pensé, alors, à nous adresser aux méthodes de l'anatomie végétale, espérant ainsi obtenir plus de clarté.

DEUXIÈME PARTIE

MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTION HISTOGÈNE EXERCÉE PAR LES BOURGEONS SUR LES TISSUS SOUS-JACENTS

L'étude physiologique des phénomènes de corrélation semble montrer que ceux-ci feraient intervenir des mécanismes humoraux et l'on estime, en général, que les bourgeons sécrèteraient un certain nombre de substances formatrices, se déplaçant de façon polarisée au sein des tissus; mais la plupart de ces hormones sont encore hypothétiques.

En effet, les techniques physiologiques ne permettent pas d'apporter une démonstration irréfutable de cette théorie. Nous avons alors pensé que ces substances formatrices devaient provoquer, au cours de leur conduction, des remaniements que nous nous sommes efforcé de déceler dans la seconde partie de notre travail.

Nos prédécesseurs, tels que JOST, SNOW, GOUWENTAK, etc., avaient déjà réalisé des études de ce genre, mais leurs recherches avaient une portée limitée, car ils ne considéraient que les réactions du cambium, c'est-à-dire d'un tissu capable de subir des remaniements profonds en dehors de toute action des bourgeons. Nous avons voulu étendre ces travaux à d'autres types de matériels plus différenciés que le cambium, mais susceptibles pourtant de se remanier et de donner naissance, après dédifférenciation, à divers types d'organes, tels que des bourgeons et des racines.

Nous considérerons successivement les modifications histologiques provoquées par des bourgeons néoformés sur divers types de tissus, puis l'influence qu'exercent des bourgeons greffés sur leurs supports, et, enfin, nous rechercherons si leur action histogène met en jeu un mécanisme humoral.

CHAPITRE I

ETUDE DE L'INFLUENCE HISTOGENE EXERCEE PAR LES BOURGEONS NEOFORMES SUR DES FRAGMENTS DE TISSUS CULTIVES *IN VITRO*

Des tissus de nombreux végétaux sont susceptibles de régénérer des méristèmes de bourgeons. Le choix que nous avons fait, parmi eux, a été guidé par le souci de travailler, d'une part, sur des tissus possédant une polarité accentuée (racine d'Endive, racine de Scorsonère, rhizome de Crambe maritime), d'autre part, sur un tissu présentant une polarité extrêmement faible (tissu cambial d'Orme isolé). Nous allons étudier successivement les réactions présentées par chacun de ces matériels.

I. — Influence exercée par les bourgeons néoformés sur des tissus présentant une polarité accentuée

A. — Influence exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de racine d'Endive

Nous avons employé, au cours de cette étude, la même variété de Chicorée (Witloof), cultivée sous le nom d'Endive, que celle qui nous a servi pour effectuer nos recherches sur les corrélations d'inhibition et la rhizogénèse.

Avant d'aborder l'exposé de nos résultats, nous allons envisager brièvement l'anatomie du tubercule normal.

a) STRUCTURE DE LA RACINE D'ENDIVE.

Si l'on examine à un faible grossissement une coupe transversale pratiquée dans une racine d'Endive, on observe immédiatement l'existence de deux régions principales séparées par la zone génératrice libéro-ligneuse, qui présente l'aspect d'une mince ligne très sinueuse. La partie située à l'extérieur de cette zone génératrice est constituée par un parenchyme dans lequel rayonnent des files de cellules criblées ou cordons libériens, accompagnées par des pseudo-laticifères de plus en plus nombreux à me-

sure que l'on se rapproche de la zone génératrice. La partie située à l'intérieur de la zone génératrice est constituée par du parenchyme vasculaire dans lequel rayonnent des files de vaisseaux de gros calibre (fig. 23). Lors de l'ensemencement, les régions superficielles sont éliminées, et l'on aperçoit alors la section des nombreuses radicelles que présentait le tubercule.

Dans une première série de recherches, nous avons expérimenté sur des fragments comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus; dans une autre, nous avons étudié le comportement de fragments de parenchyme vasculaire isolé.

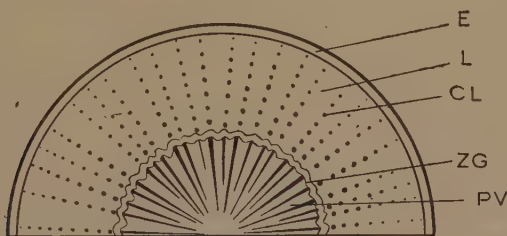


Fig. 23. — Schéma de la section transversale d'un tubercule de Chicorée.

L'organe est limité extérieurement par une mince zone subérifiée (E). A l'intérieur, on trouve d'abondantes formations secondaires constituées par la zone génératrice libéro-ligneuse (Z G) produisant du parenchyme vasculaire (P V) sur sa face interne et du liber (L) sur sa face externe. CL : Cordon libérien.

Nous allons envisager successivement les phénomènes que nous avons observés sur ces deux types d'explantats, sans nous attarder sur les processus conduisant à l'édification des méristèmes, car ceux-ci ont été étudiés en détail par BUVAT dans son travail sur la dédifférenciation des cellules végétales.

b) FRAGMENTS COMPORTANT DU LIBER, DU PARENCHYME VASCULAIRE ET LA PORTION DE ZONE GÉNÉRATRICE COMPRISE ENTRE CES DEUX TISSUS.

Nous allons examiner succinctement le développement des fragments au cours de la culture, puis nous envisagerons les modifications histologiques induites dans les tissus sous-jacents, lors du développement des méristèmes en tiges feuillées. Toutes les observations qui vont être décrites dans ce paragraphe concernent des cultures maintenues à l'obscurité.

1°) Caractères généraux du développement des cultures.

Nous avons opéré sur des prismes enfoncés verticalement dans le milieu de culture; certains étaient disposés d'une manière telle que leur région radicale soit baignée par le substrat, et d'autres étaient orientés inversement. Le mode de développement de semblables cultures ayant déjà été

décrit (voir p. 53), nous n'en parlerons que brièvement, et nous insisterons seulement sur l'évolution anatomique que manifestent les tissus au cours de leur prolifération *in vitro*. Cette évolution diffère selon l'épaisseur des explantats. Nous considérons successivement le comportement des prismes épais de 3 cm., puis celui de tranches n'ayant que 0,5 cm. d'épaisseur environ.

*) *Prismes longs de trois centimètres environ.*

Si l'extrémité foliaire du fragment mis en culture est située à l'opposé du substrat, elle donne naissance à un cal peu volumineux, dérivant de la prolifération du liber, de la zone génératrice et des régions périphériques du parenchyme vasculaire. Au bout de 10 à 12 jours, on voit apparaître, à la surface de ce cal, de jeunes bourgeons qui se développent bientôt en tiges feuillées. Ultérieurement, il se forme des racines sur l'extrémité radiale de l'explantat (voir fig. 15).

L'étude anatomique d'un tel fragment montre que le cal produit dans la région foliaire est entièrement parenchymateux. Il s'y forme de nombreux points végétatifs de tiges, répartis sans ordre spécial; toutefois, ceux qui apparaissent au niveau du parenchyme vasculaire restent à l'état d'ébau-

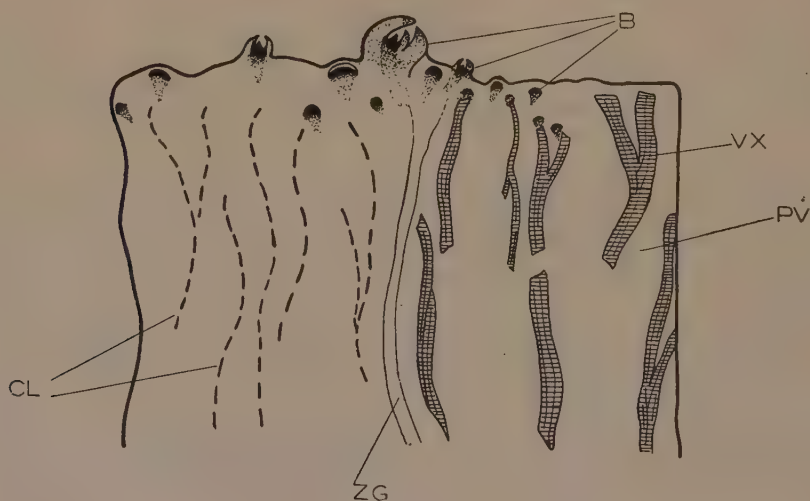


Fig. 24. — Coupe longitudinale pratiquée dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive ayant été cultivé pendant onze jours dans une position telle que son extrémité radiale soit enfoncée dans le milieu nutritif.

L'examen de ce schéma montre que le cal édifié dans la région foliaire est peu volumineux et qu'il se forme surtout à partir de la zone génératrice (ZG) et du liber (CL : cordons libériens). Le parenchyme vasculaire (PV), dans lequel on distingue les vaisseaux préexistants (VX), n'a proliféré que faiblement et seulement dans ses régions les plus proches du cambium. Des bourgeons (B) naissent aux dépens des divers tissus et du cal.

ches, tandis que ceux qui s'édifient en face de la zone génératrice et du liber évoluent en tiges feuillées (fig. 24).

Si l'extrémité radicale est placée hors du milieu, il s'y développe un cal volumineux à partir du liber, de la zone génératrice, et des régions jeunes du parenchyme vasculaire. Après une douzaine de jours de culture, on voit apparaître, à la surface de ce cal, des ébauches de bourgeons qui évoluent en tiges feuillées. Leur vitesse de croissance est toutefois inférieure à celle des ébauches qui se développent sur l'extrémité foliaire, quand celle-ci est à l'opposé du substrat. Enfin, dans ce cas, l'extrémité foliaire ne produit jamais de racines (voir fig. 16).

Si l'on suit l'évolution de la structure du cal radical, on constate qu'il est d'abord homogène. Puis, dans la région située au niveau du liber, on

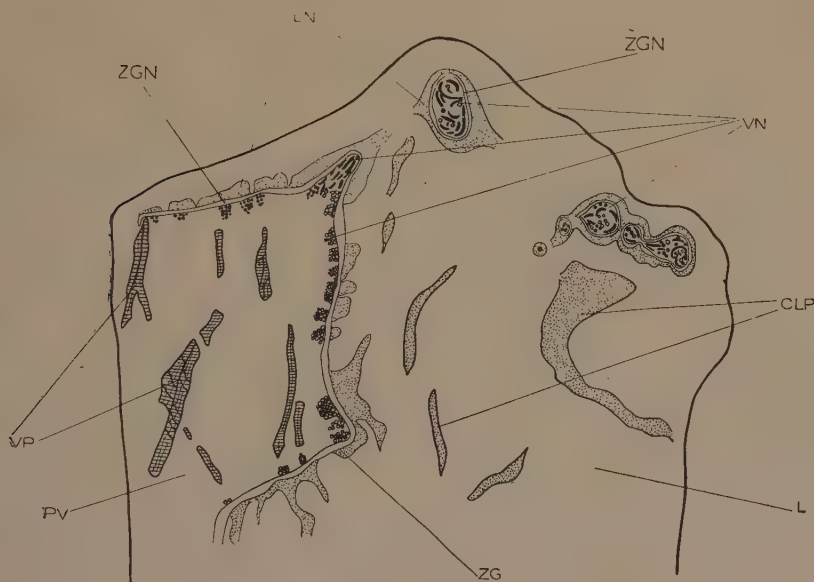


Fig. 25. — Coupe longitudinale pratiquée dans la région radicale d'un fragment de racine d'Endive ayant été cultivé pendant six jours dans une position telle que son extrémité foliaire soit enfoncée dans le milieu nutritif.

Le cal qui s'édifie sur l'extrémité radicale des explantats est beaucoup plus volumineux que celui formé par la région foliaire. Il présente, en outre, une structure complexe : on observe, au-dessus du liber, une section de la plage libéro-ligneuse à contour tourmenté, dont on voit une ébauche de raccord avec le cambium normal, et, au-dessus du parenchyme vasculaire, une zone génératrice régulière, néoformée, raccordée, elle aussi, à la zone génératrice normale. Ce cambium néoformé a produit des tubes criblés vers l'extérieur, et des vaisseaux vers l'intérieur. Remarquer que la zone génératrice normale de l'explantat, elle aussi, a proliféré spontanément.

ZG : Zone génératrice normale; ZGN : Zones génératrices néoformées; PV : Parenchyme vasculaire; VP : Vaisseaux préexistants; L : Liber; CLP : Cordons libériens; VN : Vaisseaux néoformés; LN : Liber néoformé.

voit se former des nodules dédifférenciés, qui produisent par la suite des tubes criblés à leur périphérie, et des cellules lignifiées dans leur région centrale; au-dessus du parenchyme vasculaire, qui prolifère plus faiblement, il apparaît une zone génératrice libéro-ligneuse parallèle à la section radicale. Ce cambium néoformé produit des cellules ligneuses sur sa face interne, c'est-à-dire du côté du tissu préexistant, et du liber sur sa face externe. Ces divers phénomènes se déroulent très rapidement, et 4 à 5 jours après l'ensemencement, le liber du fragment est recouvert par une plage constituée par des nodules libéro-ligneux reliés entre eux, et à la zone génératrice de l'explantat, par de fins prolongements cribro-vasculaires. La partie du cal formée au-dessus du parenchyme vasculaire renferme des formations libéro-ligneuses, mais celles-ci, au lieu d'être anarchiques, ont l'aspect d'une nappe régulière raccordée, elle aussi, au cambium normal du fragment. On remarque, en outre, que la zone génératrice de l'explantat a proliféré. Une telle structure est représentée sur la figure 25, qui intéresse un fragment ayant été cultivé pendant 6 jours.

On constate, enfin, que des ébauches de bourgeons apparaissent; leur néoformation ne se produit pas en un endroit quelconque du cal, comme c'est le cas pour l'extrémité foliaire, mais elles s'édifient uniquement à partir des cellules méristématiques, contenues dans la plage libéro-ligneuse complexe, différenciée au-dessus du liber.

***) Prismes longs de 0,5 cm. environ.*

On observe, dans ce cas, des processus de morphogénèse légèrement différents de ceux que manifestent les prismes longs de 3 cm. environ.

C'est ainsi que les cals foliaires et radicaux, se développant sur ces petits explantats, ont pratiquement la même grosseur. Les bourgeons apparaissent simultanément sur les deux pôles des fragments et s'accroissent avec des vitesses très voisines, quelle que soit leur localisation. Or, nous avons vu, dans le paragraphe précédent, que les bourgeons apparus dans la région foliaire des prismes épais se développaient plus vite que ceux formés sur la face opposée. La polarité des fragments minces semble donc atténuée.

D'autre part, déjà au bout de quinze jours, il se forme des racines sur l'extrémité radicale des prismes minces, sous l'influence des bourgeons développés dans la région foliaire, alors que les méristèmes radiculaires n'apparaissent qu'après un mois de culture à la base des prismes épais. Toutefois, on n'observe jamais de racines sur l'extrémité foliaire, lorsque la face opposée produit des bourgeons en voie de croissance active (fig. 26 et 27).

Il n'y a pas de différence entre les prismes minces et épais, au point de vue de la structure du cal foliaire : dans les deux cas, celui-ci est homogène et les bourgeons s'y édifient en des endroits quelconques.

Par contre, il existe des différences anatomiques profondes entre le cal apparaissant sur l'extrémité radicale des prismes minces, et les néoformations correspondantes produites par les prismes épais. Rappelons que les explantats épais édifient au-dessus du liber, au cours des premiers stades de la culture, une plage libéro-ligneuse volumineuse et à contour complexe donnant naissance à de nombreux bourgeons. La région située au-dessus du parenchyme vasculaire produit, dans le même temps, une nappe libéro-ligneuse dans laquelle il ne se forme pas de points végétatifs de tiges (fig. 28 A).

Le comportement anatomique du cal radical des explantats minces est

Fig. 26. — Fragment de racine d'Endive, épais de 0,5 cm., ayant été cultivé pendant dix-huit jours dans une position telle que sa face radicale soit appliquée contre le milieu nutritif.

La région foliaire, qui est ici tournée vers le haut, a produit des bourgeons, tandis que la face radicale, plongée dans le milieu, a donné naissance à un système racinaire exubérant.



Fig. 27. — Fragment de racine d'Endive, épais de 0,5 cm., ayant été cultivé pendant dix-huit jours dans une position telle que sa face foliaire soit appliquée contre le milieu nutritif.

La région radicale, qui est ici tournée vers le haut, a produit des bourgeons apparaissant au même moment, et se développant presque aussi rapidement que ceux localisés sur l'extrémité foliaire d'explantats de même taille (comparer avec la fig. 26). La polarité de minces fragments semble donc moins accusée que celle des prismes épais (comparer avec les fig. 15 et 16). Cependant, la région foliaire, immergée, ne produit jamais de racines.



tout différent. Le liber donne naissance à un cal indifférencié, homogène. Par contre, une nappe libéro-ligneuse régulière s'édifie au-dessus du parenchyme vasculaire d'une manière analogue à ce que l'on observe sur les prismes plus épais ; mais, ici cette nappe donne naissance à de nombreux bourgeons qui évoluent en tiges feuillées, tandis que le cal libérien homogène n'en produit pas (fig. 28 B).

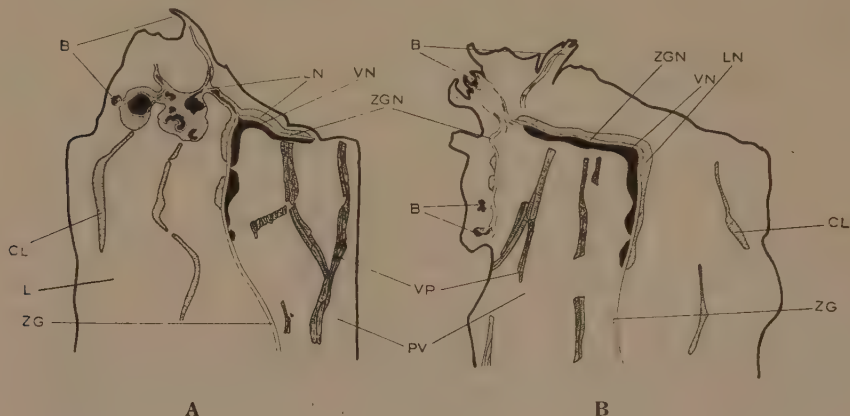


Fig. 28. — Schémas permettant de comparer la structure des cals édifiés sur les extrémités radicales de fragments de racine d'Endive épais et minces, ayant été cultivés pendant quatorze jours dans une position telle que leurs régions foliaires soient appliquées contre le milieu nutritif.

A. — Coupe longitudinale pratiquée dans la région radicale d'un explantat long de 3 cm. environ. Le liber (L) a produit un cal volumineux contenant une plage libéro-ligneuse à contour complexe, à partir de laquelle s'édifient des ébauches de bourgeons (B). Le parenchyme vasculaire (PV) a donné naissance à un cal moins important, dans lequel on observe une nappe libéro-ligneuse régulière, à partir de laquelle il n'est apparu aucun point végétatif de tige. La coupe passe par un des points de raccord de la plage libéro-ligneuse édifiée au-dessus du liber avec la zone génératrice de l'explantat.

B. — Coupe longitudinale pratiquée dans la région radicale d'un explantat épais de 0,5 cm. environ. Le cal formé au-dessus du liber est peu volumineux, et homogène. Par contre, le parenchyme vasculaire a produit, comme dans le cas précédent, une nappe libéro-ligneuse parallèle à la surface de section du prisme ; c'est à partir de cette nappe que se sont édifiées les ébauches de bourgeons.

ZG : Zone génératrice normale ; ZGN : Zone génératrice néoformée ; CL : Cordons libériens ; VP : Vaisseaux préexistants ; LN : Liber néoformé ; VN : Vaisseaux néoformés.

2°) Etude de l'action exercée par les bourgeons néoformés dans la région foliaire des explantats.

Nous ne pouvons songer à étudier l'évolution des modifications éventuellement exercées par les bourgeons sur les tissus sous-jacents, en utilisant des coupes longitudinales radiales, car la sinuosité excessive de la zone génératrice rend, en général, les coupes illisibles. La figure 29, qui repré-

sente l'aspect du parenchyme vasculaire d'une racine d'Endive après élimination du liber, donne une idée de la complexité de surface que présente la zone génératrice de ce tubercule. Nous nous sommes donc contenté d'examiner des coupes transversales que nous avons pratiquées dans des explantats présentant un degré d'évolution de plus en plus avancé.

Fig. 29. — Aspect du parenchyme vasculaire d'Endive isolé.

La photographie représente le parenchyme vasculaire d'une racine tel qu'on l'obtient après élimination du liber et de la zone génératrice. Remarquer combien la surface du fragment est tourmentée.

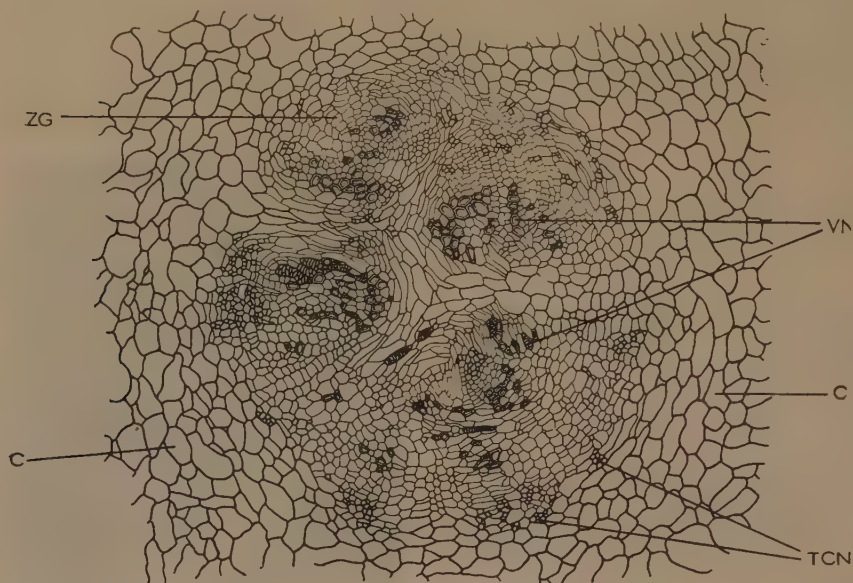


Nous envisagerons, tout d'abord, les remaniements observés dans les tissus situés en-dessous d'ébauches très jeunes, à peine sorties du cal, apparues soit au niveau de la zone génératrice, soit du parenchyme libérien ; nous décrirons ensuite l'évolution de ces modifications histologiques, en examinant des explantats portant des bourgeons bien développés.

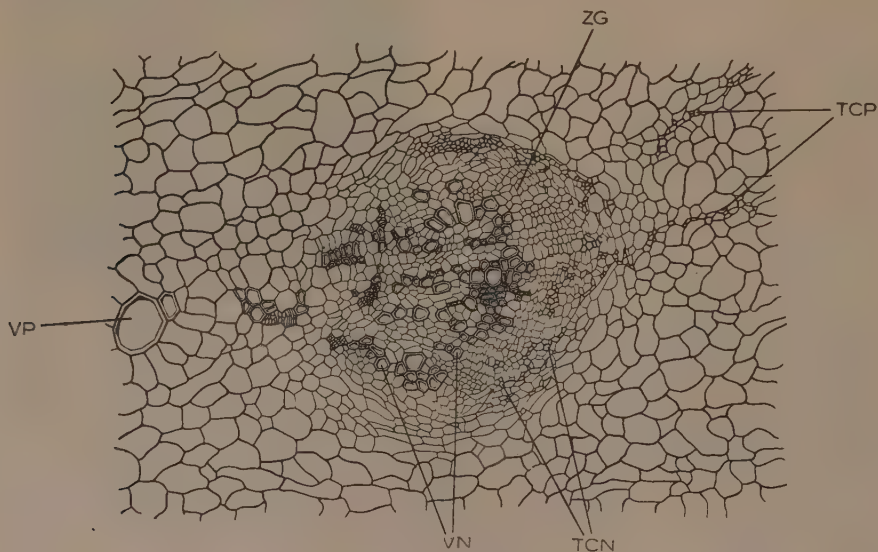
*) *Jeunes ébauches néoformées dans le cal au niveau de la zone génératrice.*

Examinons des coupes pratiquées dans un explantat ayant donné naissance à un jeune bourgeon dans la région du cal située au-dessus du cambium.

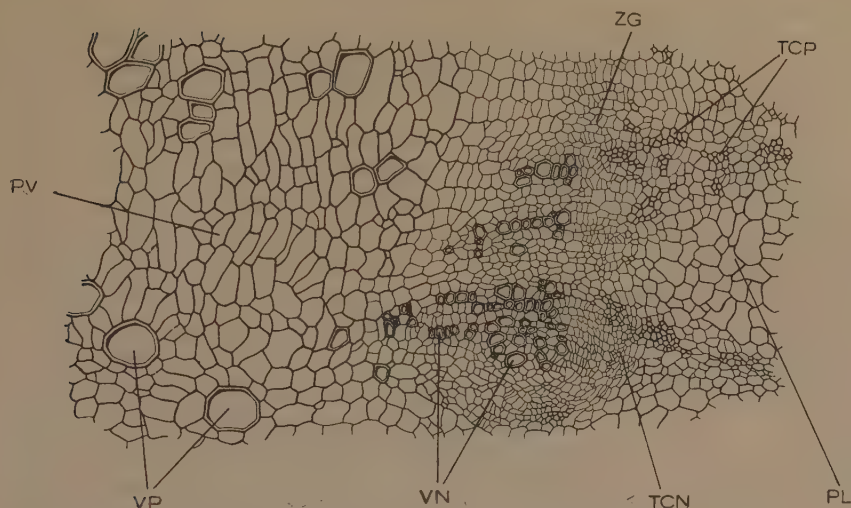
Fig. 30. — Coupes représentant les modifications histologiques se produisant en-dessous d'un bourgeon, long de 5 mm., apparu au niveau de la zone génératrice, dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.



A. — La figure intéresse le cal (C) ; on observe des ilots de cellules criblées (TCN) et des vaisseaux superposés (VN), séparés par une zone génératrice (ZG), et présentant une disposition cyclisée.



B. — A ce niveau, on parvient à la limite du tissu préexistant de l'explantat que l'on reconnaît à la présence des vaisseaux de fort calibre (VP) et des cordons libériens normaux (TCP) de la racine. Remarquer l'ouverture en fer à cheval des faisceaux cribro-vasculaires néoformés.



C. — Ce dessin, représentant une section effectuée à 2 mm. en-dessous de la figure précédente, montre le détail des éléments conducteurs néoformés par la zone génératrice normale de l'explantat. Si l'on peut évaluer, sans difficulté, le nombre de cellules ligneuses néoformées, il est presque impossible, par contre, de distinguer avec certitude les cellules criblées induites par le bourgeon des éléments libériens préexistants dans le fragment mis en culture.

La figure 30 représente des sections effectuées dans un fragment de racine portant un tel bourgeon, long de 0,5 cm. environ. La première coupe intéresse le cal, juste en-dessous de la base du bourgeon (fig. 30 A) ; on remarque qu'il est apparu des éléments cribro-vasculaires, présentant une disposition superposée cyclique, dans le tissu parenchymateux homogène constituant le cal. Cette structure se modifie bientôt, et dès que les sections intéressent la limite du tissu préexistant (fig. 30 B), les faisceaux conducteurs s'ouvrent en forme de fer à cheval, les vaisseaux étant orientés vers le parenchyme vasculaire de l'explantat. La zone génératrice du bourgeon vient coïncider avec celle du prisme ; cette dernière prolifère alors en donnant de nombreuses cellules ligneuses, ainsi que des tubes criblés néoformés.

Il est très facile d'apprécier l'intensité de la prolifération de la zone génératrice en se basant sur le nombre des vaisseaux différenciés en-dessous du bourgeon, car ceux-ci sont beaucoup plus petits et présentent une organisation bien différente des éléments lignifiés préexistants (fig. 30 C). Il est, par contre, peu aisé de déterminer exactement quels sont les éléments criblés néoformés, parmi les nombreuses cellules libériennes que l'on observe sur la face externe du cambium.

Enfin, l'examen de coupes pratiquées à des niveaux de plus en plus éloignés de l'extrémité foliaire de l'explantat permet de constater que le nombre de ces formations cribro-vasculaires diminue progressivement.

***) Jeunes ébauches néoformées dans le cal au niveau du liber.*

Examinons maintenant le cas des bourgeons néoformés dans la région libérienne des fragments.

La figure 31 représente des sections effectuées dans un explantat sur le liber duquel s'est développé un bourgeon haut de 2 mm. environ. On observe, sur la première section, qui intéresse le cal, des formations cribro-vasculaires superposées, dont la disposition est moins régulière que celle des formations analogues décrites en-dessous du bourgeon long de 5 mm., dans le paragraphe précédent. L'examen des coupes intéressant des régions de plus en plus éloignées de la base de l'ébauche, montre que ces formations traversent le cal, le parenchyme libérien, et se poursuivent dans le cordon libérien le plus proche du point de formation du bourgeon. La figure 31 B représente l'aspect des éléments conducteurs dans le parenchyme libérien ; on constate que les éléments cribro-vasculaires se sont édifiés au sein d'une plage différenciée allongée radialement. On remarque, en haut, à gauche de cette figure, des tubes criblés préexistants qui indiquent la localisation du cordon libérien dans lequel on va continuer à suivre les modifications anatomiques.

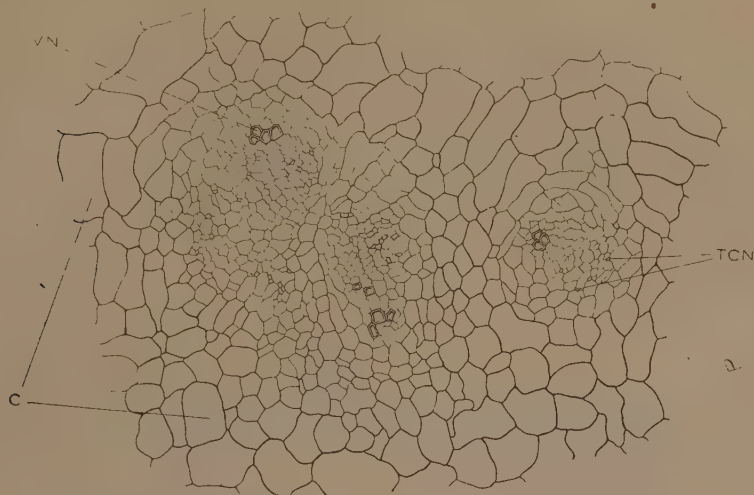
On voit, sur les deux figures suivantes (fig. 31 C et D), les remaniements histologiques se poursuivant au sein de ce cordon libérien ; on remarque que le nombre de cellules vasculaires différenciées a diminué régulièrement depuis la base du bourgeon (fig. 31 C), et l'on parvient finalement à un niveau où il n'y a plus qu'un seul vaisseau, accompagné de quelques cellules libériennes. En-dessous de ce niveau, on observe, au sein du cordon libérien, un vaste massif méristématique dans lequel on devine encore quelques tubes criblés néoformés (fig. 31 D). Puis les coupes intéressent une région où il ne subsiste plus que la plage dédifférenciée, plage dont la superficie diminue à mesure que l'on s'enfonce dans les tissus, jusqu'au moment où, seuls, quelques recloisonnements marquent le terme final des remaniements que l'on observe dans les tissus sous-jacents au bourgeon.

En résumé, lorsqu'on s'éloigne de plus en plus de la base des bourgeons, on observe une diminution progressive des processus de différenciation d'éléments conducteurs au sein des tissus méristématiques néoformés, les vaisseaux disparaissant les premiers, et ensuite les tubes criblés. Cette succession d'aspects dans l'espace permet de retracer l'évolution de chaque région dans le temps : il s'est produit, tout d'abord, en-dessous des ébauches, une dédifférenciation des tissus, puis une formation de liber et enfin de vaisseaux. Ceci confirme la théorie classique, selon laquelle le premier élément différencié lors de l'édification d'un système cribro-vasculaire est un tube criblé.

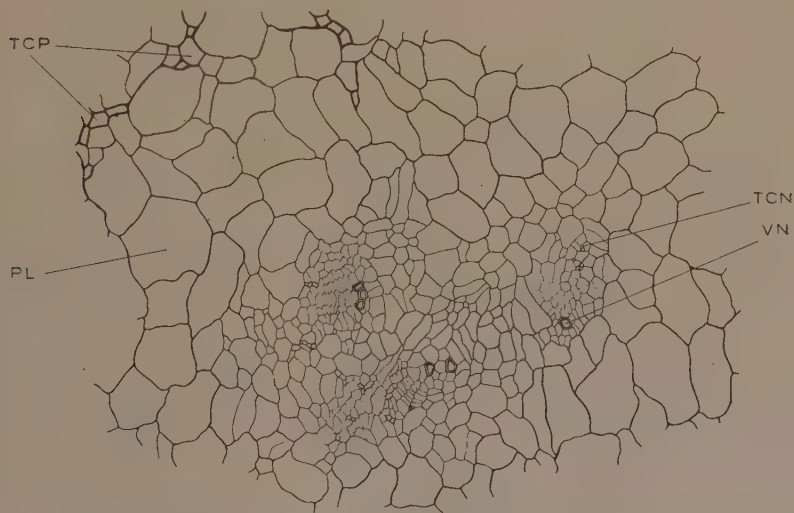
Cependant, dans l'exemple précédent, le stade intéressant de cette évolution se déroulait en plein cordon libérien, et il était possible de confondre un tube criblé néoformé avec un de ces éléments préexistant déplacé par la

RÔLE DES BOURGEONS DANS LA MORPHOGÉNÈSE

Fig. 31. — Coupes représentant les modifications histologiques se produisant au-dessous d'un bourgeon long de 2 mm., apparu au-dessus du liber, dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.



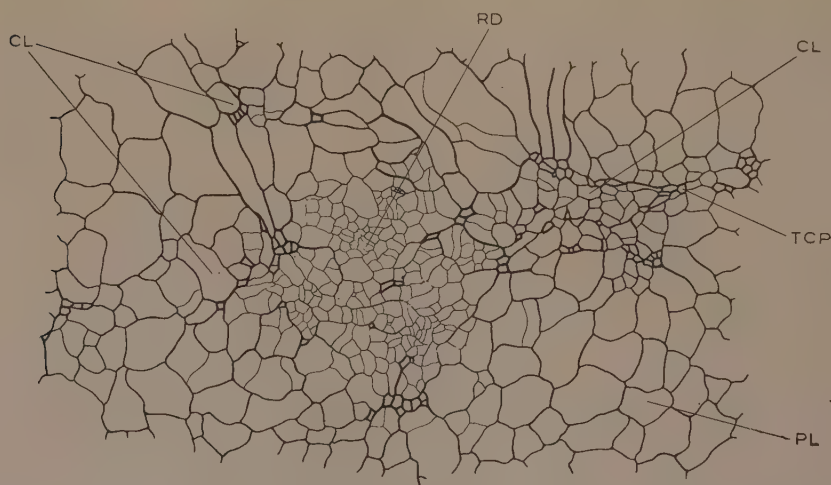
A. — Cette figure intéresse le cal (C), formé de grandes cellules. On remarque qu'il est apparu des vaisseaux (VN) et des tubes criblés (TCN) néoformés au sein d'une plage recloisonnée. Ces éléments conducteurs présentent une disposition superposée.



B. — Section pratiquée à 250 μ au-dessous de A, dans le liber préexistant de l'explantat. Observer les remaniements dans le parenchyme libérien (PL). En haut, à gauche de la figure, on distingue le bord du cordon libérien (TCP), vers lequel s'orientent les modifications.



C. — Section pratiquée à $250\ \mu$ au-dessous de B. On constate que le cordon libérien (CL) est profondément remanié. Remarquer qu'à ce niveau il y a moins d'éléments conducteurs qu'au niveau du cal.



D. — Coupe effectuée à $900\ \mu$ en-dessous de C. La surface de la plage recloisonnée (RD) a considérablement diminué. Au sein de celle-ci, on n'observe plus de vaisseaux différenciés, et l'on ne peut affirmer, avec certitude, la présence de tubes criblés néoformés.

prolifération. Pour obtenir une démonstration encore meilleure, il était nécessaire de reprendre cette étude sur une ébauche très jeune, afin que le terme final des processus de différenciation n'ait pas encore atteint le liber de l'explantat. Aussi avons-nous pratiqué des coupes en-dessous d'un

très jeune bourgeon non encore sorti du cal, et ayant à peine différencié ses premières feuilles.

La figure 32 représente trois de ces coupes. La première A, qui intéresse le cal, dans une région située à $200\ \mu$ de la base du méristème, montre les dernières cellules ligneuses différenciées, associées à des cellules criblées néoformées; autour de ces éléments conducteurs, on observe une plage dédifférenciée. La seconde coupe, intéressant encore le cal, dans une région située à $175\ \mu$ en-dessous de la première, ne présente plus de vaisseaux, mais seulement quelques cellules criblées dans une plage recloisonnée, ce qui confirme la théorie classique. La dernière coupe, effectuée à $200\ \mu$ en-

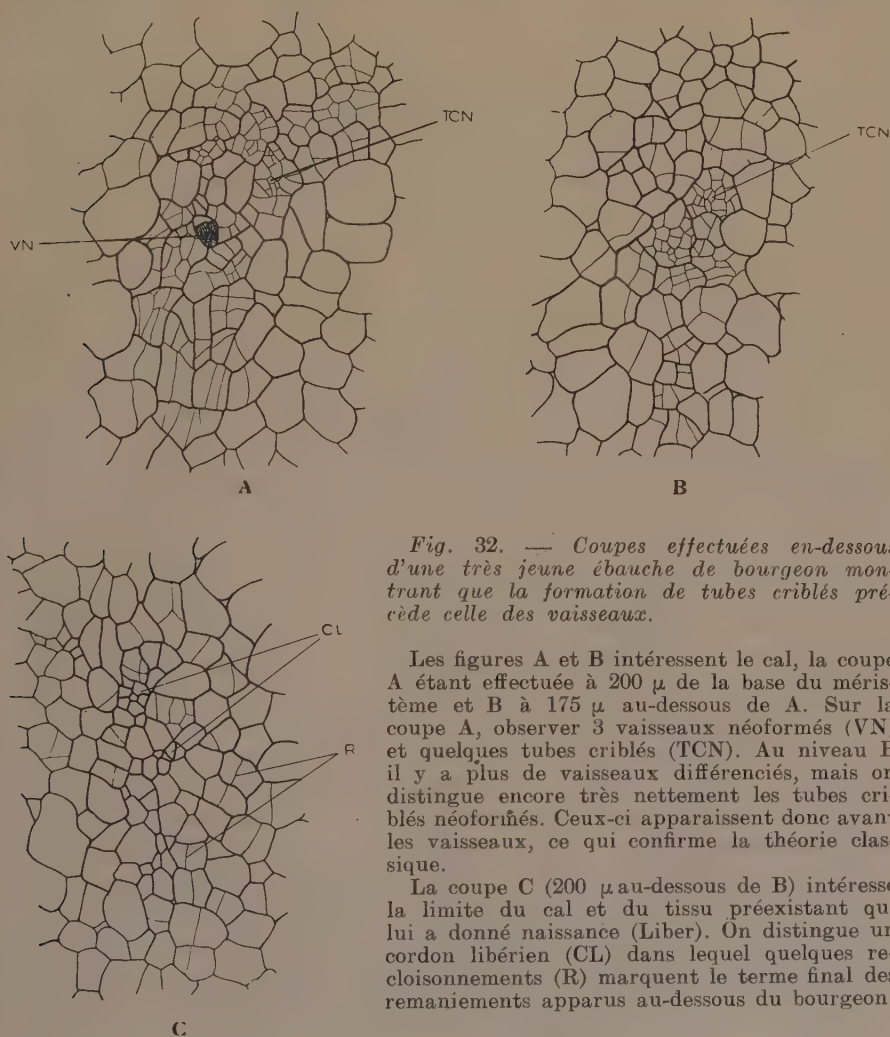


Fig. 32. — Coupes effectuées en-dessous d'une très jeune ébauche de bourgeon montrant que la formation de tubes criblés précède celle des vaisseaux.

Les figures A et B intéressent le cal, la coupe A étant effectuée à $200\ \mu$ de la base du méristème et B à $175\ \mu$ au-dessous de A. Sur la coupe A, observer 3 vaisseaux néoformés (VN) et quelques tubes criblés (TCN). Au niveau B il y a plus de vaisseaux différenciés, mais on distingue encore très nettement les tubes criblés néoformés. Ceux-ci apparaissent donc avant les vaisseaux, ce qui confirme la théorie classique.

La coupe C ($200\ \mu$ au-dessous de B) intéresse la limite du cal et du tissu préexistant qui lui a donné naissance (Liber). On distingue un cordon libérien (CL) dans lequel quelques recloisonnements (R) marquent le terme final des remaniements apparus au-dessous du bourgeon.

dessous de la seconde, et pratiquée à la limite du tissu préexistant, montre les derniers stades de l'influence exercée par l'ébauche de bourgeon, qui se traduisent par quelques recloisonnements des cellules d'un cordon libérien.

***) *Bourgeons bien développés.*

Les observations anatomiques que nous venons de décrire montrent que tout se passe comme si les jeunes bourgeons néoformés sur le liber, dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive, exerçaient sur les tissus sous-jacents une action histogène polarisée, se traduisant par une dédifférenciation des tissus, suivie d'une redifférenciation progressive de formations conductrices. Les processus de redifférenciation débuteraient par la formation de tubes criblés, et se poursuivraient par la différenciation de vaisseaux.

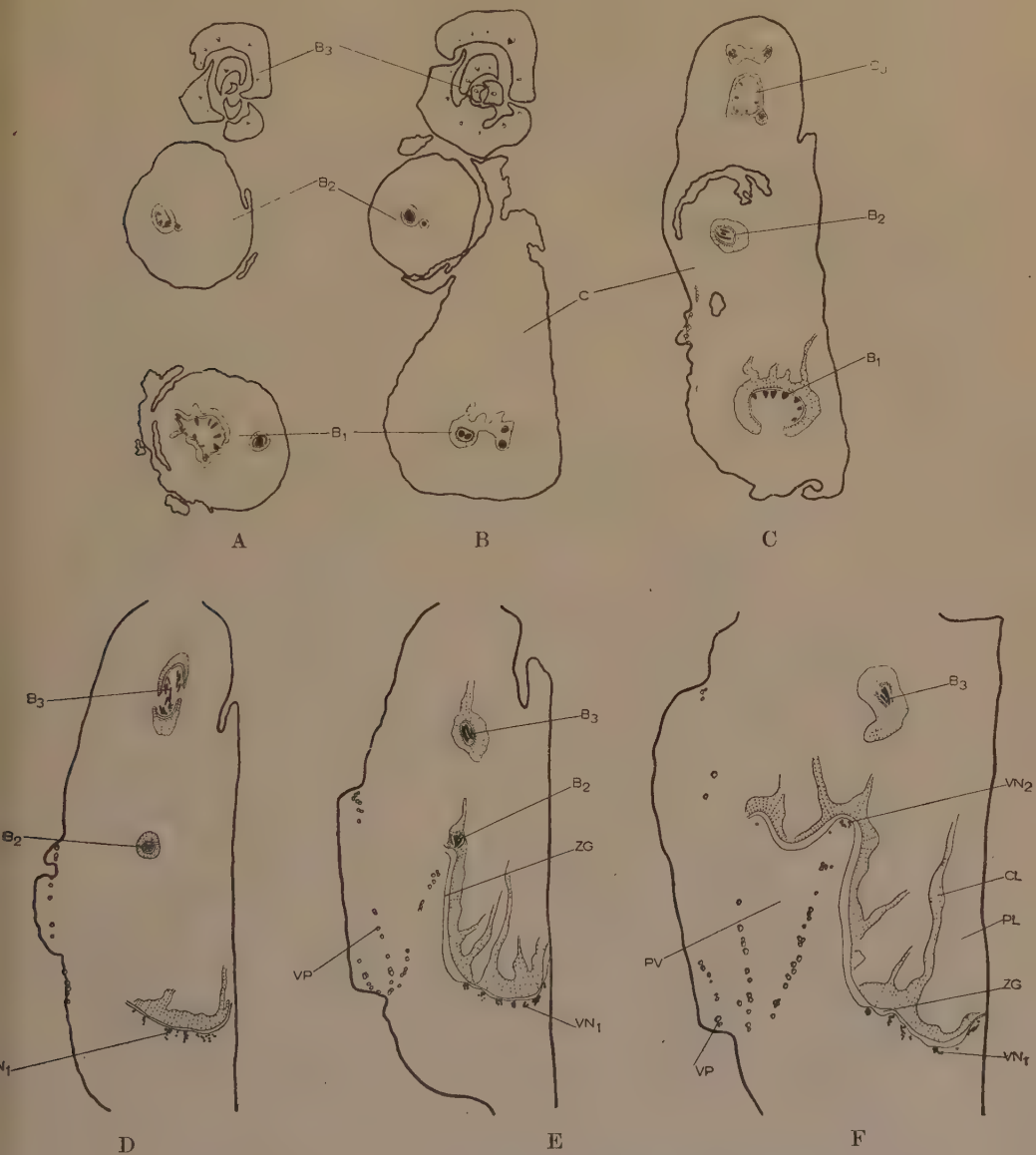
Il importe maintenant de rechercher quelle orientation prennent ces remaniements progressifs dans les cordons libériens, et, au sein de ceux-ci, quelle évolution structurale présentent les formations cribro-vasculaires induites, à mesure que les bourgeons se développent. D'autre part, il est nécessaire d'étudier, dans les mêmes circonstances, la prolifération cambiale. Pour cela, pratiquons des sections dans des prismes portant des bourgeons bien développés.

La figure 33 représente une série de coupes transversales effectuées dans un explantat, à partir de la base des tiges feuillées, jusqu'à une profondeur d'environ 4 à 5 mm. dans le tissu préexistant. Cet explantat portait trois bourgeons, dont l'un (1), qui avait pris naissance dans le cal édifié à partir de la zone génératrice, atteignait une longueur de 4 cm. environ. Les deux autres (2, 3), différenciés dans le cal formé par le liber, étaient longs respectivement de 1 cm. et 4 mm.

L'examen des coupes successives montre que les formations conductrices du bourgeon 1, apparu au-dessus de la zone génératrice, se raccordent rapidement à celle-ci. Au-dessous du point de raccord, la zone génératrice prolifère alors pour donner naissance à des vaisseaux dont le nombre diminue à mesure que l'on s'enfonce dans le tissu préexistant. La comparaison des figures 33 C, D, E et de la figure 30 C montre que l'on observe, au-dessous d'une tige feuillée bien développée, une formation beaucoup plus abondante de vaisseaux qu'au-dessous d'une jeune ébauche.

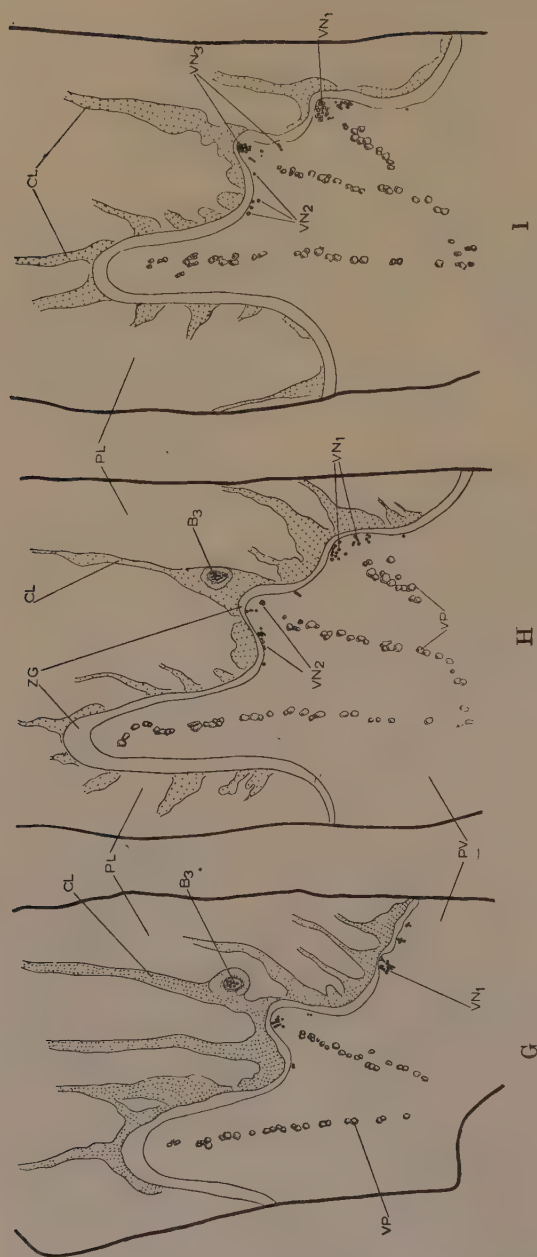
D'autre part, on remarque que les éléments conducteurs apparus au-dessous du bourgeon 2, s'orientent obliquement à l'intérieur du cal pour se poursuivre dans un cordon libérien, puis se raccorder à la zone génératrice. Celle-ci, qui n'avait produit jusque-là aucune néoformation dans cette région, différencie alors des vaisseaux au-dessous du raccord. Cette orientation des formations conductrices, à travers un cordon libérien, vers la zone génératrice, est encore plus nettement marquée pour le bourgeon 3 qui est apparu dans les régions les plus périphériques du liber. On peut

Fig. 33. — Coupes transversales pratiquées dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive ayant produit des pousses feuillées bien développées.



Le fragment portait trois bourgeons (B₁ : long de 4 cm.; B₂ : long de 1^{er} cm., et B₃ : long de 4 mm.) apparus, le premier au niveau du cambium, les deux autres au-dessus du liber. La série de figures ci-dessus permet de suivre les modifications anatomiques se produisant dans les tissus de l'explantat.

Les schémas A, B, C intéressent le cal (C) et l'on peut suivre aisément les formations cribo-vasculaires apparues en-dessous des 3 bourgeons. Observer sur la figure C l'ouverture en fer à cheval des éléments conducteurs néoformés en-dessous de la pousse feuillée 1.



Les figures suivantes intéressent le tissu préexistant. Sur les schémas D et E, on peut voir les vaisseaux VN_1 produits par le cambium (ZG) en-dessous de B_1 , ainsi que les modifications apparues sous B_2 et B_3 dans le liber (PL). ² Puis les éléments conducteurs de B_2 atteignent la zone génératrice qui commence alors à proliférer (VN_2) (fig. F).

Fig. G et H : observer les remaniements apparus dans un cordon libérien (CL) en continuité avec les éléments conducteurs de B_3 . Ceux-ci se rapprochent de plus en plus de la zone génératrice, au sein du cordon libérien. Remarquer la disposition superposée nette de ces remaniements sur la figure H.

Fig. I : les remaniements atteignent la zone génératrice qui commence alors à proliférer en un troisième point (VN_3).

On voit, sur la gauche des figures G, H, I que la portion de zone génératrice, au-dessus de laquelle n'est apparu aucun bourgeon, n'a pas proliféré.

PV : Parenchyme vasculaire ; VP : Vaisseaux préexistants.

remarquer, en outre, que les bourgeons 2 et 3, apparus au-dessus du liber et assez peu développés, ont provoqué la formation d'un moins grand nombre de vaisseaux au niveau du cambium que le bourgeon 1, qui avait 4 cm. de long.

Enfin, l'examen de ces figures, et en particulier des schémas F, G, H, montre que les éléments cribro-vasculaires formés au sein d'un cordon libérien au-dessus du bourgeon 3, ont acquis une structure secondaire superposée, parfaitement cyclisée. On observe, en effet, dans la file de cellules criblées qui a subi l'influence histogène de ce bourgeon, un anneau de liber néoformé, limité intérieurement par une zone génératrice qui a produit des vaisseaux de petit calibre.

Ces résultats nous permettent déjà de formuler les conclusions suivantes :

1° Tout se passe comme si les bourgeons, dont l'édification s'effectue au hasard dans le cal produit par la prolifération de la zone génératrice et du liber, induisaient une différenciation préalable des tissus sous-jacents, suivie d'une formation d'éléments cribro-vasculaires.

2° Lorsque les ébauches apparaissent au-dessus du liber, l'action histogène qu'elles semblent induire, traverse le cal, se poursuit dans le cordon libérien le plus proche, et s'oriente alors obliquement à l'intérieur de celui-ci vers la zone génératrice normale de l'explantat. A mesure que le bourgeon s'accroît, les éléments cribro-vasculaires qui apparaissent dans les tissus sous-jacents s'organisent et présentent bientôt une structure superposée cyclisée.

3° Lorsque les formations conductrices différenciées dans les tissus sous-jacents à un bourgeon, qu'il soit d'origine cambiale ou libérienne, se sont raccordées à la zone génératrice, celle-ci commence immédiatement à proliférer, mais seulement dans ses régions situées en-dessous de ce raccord ; ce résultat semble indiquer que le phénomène serait polarisé ; la zone génératrice produit alors des tubes criblés et des vaisseaux dont le nombre est d'autant plus grand que la croissance de la tige est plus avancée.

3° Mise en évidence d'une continuité entre le système cribro-vasculaire des bourgeons et celui des racines néoformées sous leur influence.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher si les formations conductrices, apparues dans le fragment d'organe, assurent une continuité entre les bourgeons et les racines qui se développent sous leur influence.

Nous avons étudié, tout d'abord, le raccord de racines avec des formations cribro-vasculaires préexistantes ; pour cela, nous avons utilisé des explantats constitués par un fragment de tissu en forme de coin portant un bourgeon prélevé sur l'extrémité foliaire d'un prisme ayant produit des tiges feuillées.

Puis, nous avons examiné l'évolution anatomique complète de fragments de racine d'Endive, depuis l'ensemencement jusqu'au moment où il apparaît des racines sous l'influence des bourgeons néoformés au cours de la culture. Nous envisagerons successivement les résultats que nous avons obtenus pour ces deux séries d'expériences.

**) Etude du raccord des racines avec des éléments conducteurs préexistants.*

Prélevons, sur l'extrémité foliaire d'un prisme de racine d'Endive ayant bourgeonné, un mince fragment de tissu en forme de coin, haut de 3 à 4 mm., supportant une jeune tige feuillée, et enfonçons-le légèrement dans un milieu nutritif. Le bourgeon s'accroît activement, et induit la formation de racines que l'on voit apparaître après 10 à 12 jours de culture dans la région basale de son support (voir fig. 17, p. 56).

Si l'on examine la structure anatomique du fragment de tissu situé à la base du bourgeon, au moment de la mise en culture, on distingue facilement les éléments conducteurs formés en-dessous de la tige feuillée dans l'explantat qui lui a donné naissance ; ces éléments conducteurs ont été sectionnés lors du prélèvement et affleurent, en général, dans la région radicale du support (fig. 34 A).

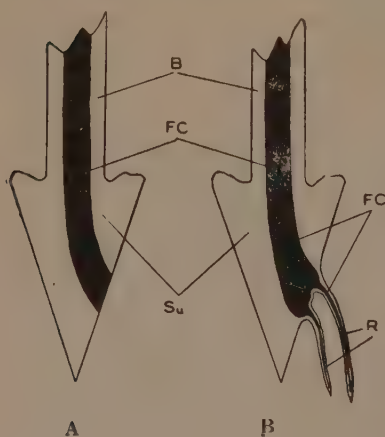


Fig. 34. — Schémas montrant le raccord qui s'établit entre le système conducteur de racines néoformées et des éléments conducteurs préexistants.

A. — Coupe longitudinale effectuée dans un fragment de tissu en forme de coin (Su), supportant une tige feuillée (B), prélevé sur l'extrémité foliaire d'un prisme de racine d'Endive ayant bourgeonné. On distingue les éléments conducteurs (FC), apparus dans l'explantat au-dessous du bourgeon, et qui ont été sectionnés lors du prélèvement.

Transportons un tel explantat dans un milieu nutritif ; on constate qu'il produit des racines, après 10 à 12 jours de culture.

B. — Coupe longitudinale pratiquée dans un fragment ayant formé des racines. On remarque que le volume des formations conductrices a légèrement augmenté au niveau de leur section, et qu'il s'est formé de très petits cals dans

cette région ; les racines (R) se sont édifiées à partir de ces cals et il existe une continuité entre leur système conducteur et celui du bourgeon.

Si l'on considère maintenant des coupes effectuées dans de tels fragments ayant produit des racines, c'est-à-dire 10 ou 12 jours après la mise en culture, on constate que celles-ci se sont différenciées à partir de très petits cals formés dans la région avoisinant les éléments conducteurs sectionnés. Ces cals sont constitués par quelques assises de cellules parenchymateuses dans lesquelles se sont différenciés des éléments cribro-vasculaires en prolongement avec les formations conductrices sectionnées du bourgeon. On remarque qu'il y a là une continuité rigoureuse entre le système conducteur des racines et celui de la tige feuillée par l'intermédiaire de ces formations cribro-vasculaires traversant le cal (fig. 34 B).

***) Etude du raccord des racines avec les éléments conducteurs néoformés.*

Nous avons réalisé cette étude en pratiquant des coupes transversales sériées dans des explantats de faible épaisseur (0,5 cm. environ), ayant produit des racines sous l'influence de bourgeons développés au cours de la culture.

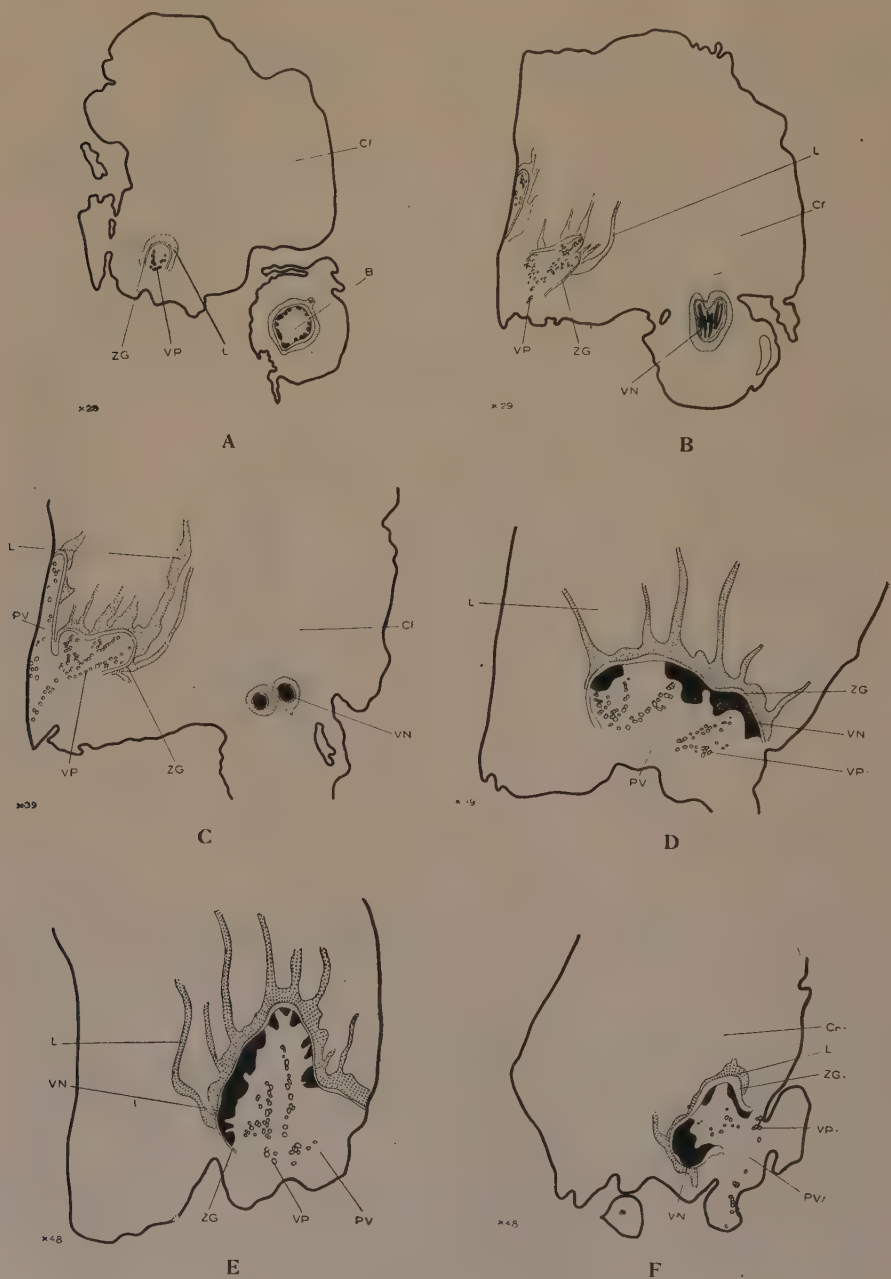
La série de schémas ci-contre (fig. 35) permet de suivre les formations conductrices édifiées, au sein d'un explantat de faible épaisseur, en-dessous d'une tige feuillée, longue de 8 cm., développée dans sa région foliaire. On remarque que la zone génératrice libéro-ligneuse du prisme n'a pas proliféré avant que les éléments cribro-vasculaires du bourgeon ne l'aient atteinte (fig. 35 A, B, C). Par contre, en-dessous du raccord, elle a donné naissance à de nombreux vaisseaux (fig. 35 D), et on peut suivre ces néoformations jusqu'à la base du prisme (fig. 35 D, E). La section F intéresse la région dans laquelle la zone génératrice normale est raccordée à la nappe libéro-ligneuse apparue spontanément au-dessus du parenchyme vasculaire, juste à la limite du tissu préexistant. Enfin, sur les coupes G, H, I effectuées en plein cal radical, on observe l'apparition de 2 racines, R_1 et R_2 , prenant naissance dans cette plage, juste à la verticale du point de raccord des faisceaux conducteurs induits par le bourgeon avec le cambium de l'explantat. Ceci permet d'affirmer l'existence d'une continuité entre les formations conductrices induites par le bourgeon et celles des racines dont il provoque la différenciation.

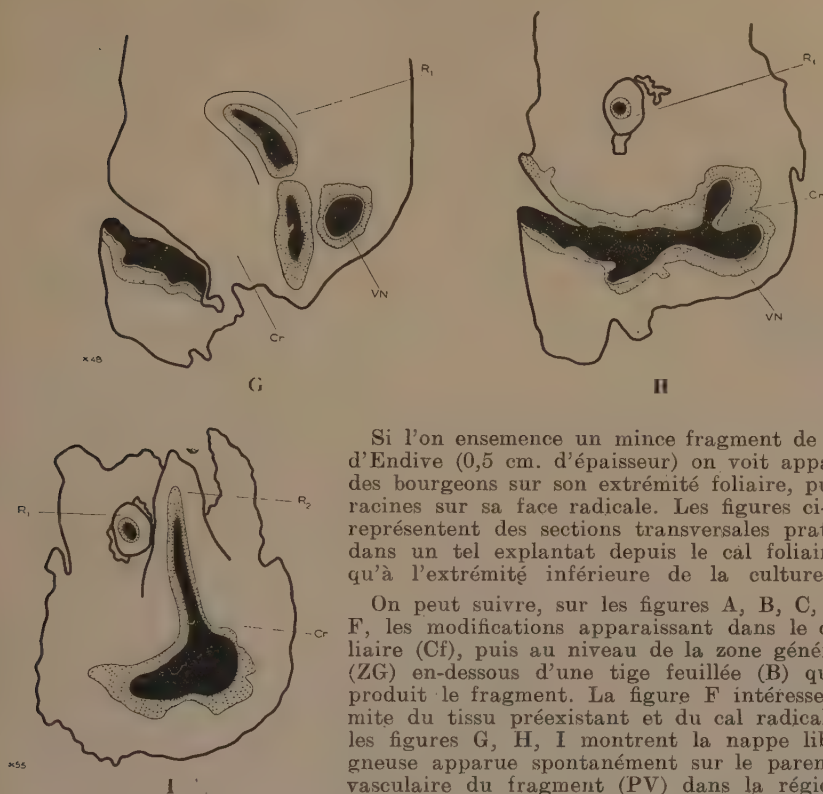
Nous verrons, au cours de la discussion de nos résultats, que ces observations nous permettent d'interpréter aisément nos expériences de physiologie.

4°) Etude de l'action exercée par les bourgeons néoformés dans la région radicale des explantats.

Lorsque les bourgeons néoformés sur l'extrémité radicale des explantats évoluent en tiges feuillées, il est impossible de savoir exactement ce que devient leur système conducteur parmi les formations cribro-vasculaires complexes qui existaient déjà dans le cal au moment où l'ébauche s'est différenciée. Cependant, il est absolument certain qu'on n'observe aucun remaniement intéressant le tissu préexistant de l'explantat, c'est-à-dire orienté dans le sens racine-feuille. Ce résultat confirme les observations précédentes concernant la polarité stricte des processus d'histogénèse. Il permet, de plus, d'étayer l'hypothèse que nous avons proposée antérieurement (p. 58), sur la conduction polarisée de l'induction rhizogène exercée par les bourgeons. On peut imaginer, en effet, que les substances régissant l'édification des méristèmes radiculaires, ou tout au moins une d'entre elles, ne peuvent se déplacer que dans le sens feuille-racine, et qu'elles sta-

Fig. 35. — Schémas montrant qu'il existe une continuité des formations cribro-vasculaires entre les bourgeons et les racines néoformées sous leur influence..





Si l'on ensemence un mince fragment de racine d'Endive (0,5 cm. d'épaisseur) on voit apparaître des bourgeons sur son extrémité foliaire, puis des racines sur sa face radiale. Les figures ci-dessus représentent des sections transversales pratiquées dans un tel explantat depuis le cal foliaire jusqu'à l'extrémité inférieure de la culture.

On peut suivre, sur les figures A, B, C, D, E, F, les modifications apparaissant dans le cal foliaire (Cf), puis au niveau de la zone génératrice (ZG) en-dessous d'une tige feuillée (B) qu'avait produit le fragment. La figure F intéresse la limite du tissu préexistant et du cal radical (Cr), les figures G, H, I montrent la nappe libéro-ligneuse apparue spontanément sur le parenchyme vasculaire du fragment (PV) dans la région basale de celui-ci. On constate, sur ces coupes, qu'il s'est édifié deux racines, R_1 et R_2 , juste à la verticale du point d'insertion de la pousse feuillée.

L : Liber, PV : Parenchyme vasculaire, VP : Vaisseaux préexistants, VN : Vaisseaux néoformés.

Fig. 36. — Fragment de parenchyme vasculaire d'Endive ayant été cultivé pendant 24 jours dans une position telle que son extrémité radicale soit enfoncée dans le milieu nutritif.

L'extrémité foliaire, tournée ici vers le haut, a peu proliféré. Des bourgeons sont apparus au sommet de l'explantat, et latéralement. La racine que l'on voit à la base de ce fragment résulte de la prolifération d'une radicelle préexistante ayant été sectionnée lors de l'ensemencement.



gnent à la base de la tige feuillée supportée par une mince lame de tissu radical, en raison de l'orientation inversée des cellules sous-jacentes.

c) FRAGMENTS DE PARENCHYME VASCULAIRE ISOLÉ.

Lorsque l'on étudie le bourgeonnement de fragments comportant du liber, un segment de zone génératrice et du parenchyme vasculaire, on constate, comme nous l'avons indiqué plus haut, que les ébauches néo-formées sur ce dernier tissu n'évoluent pas en tiges feuillées. Le développement de ces ébauches peut cependant être provoqué si l'on ensemence des fragments de parenchyme vasculaire isolé : en opérant ainsi, nous avons obtenu une croissance active des bourgeons produits par ce tissu.

Nous allons décrire succinctement le développement de semblables cultures, puis l'action histogène qu'exercent les bourgeons apparus sur les faces foliaire et radicale de fragments de parenchyme vasculaire.



Fig. 37. — Coupe transversale pratiquée dans la région foliaire d'un fragment de parenchyme vasculaire d'Endive, après quatorze jours de culture.

L'examen de cette figure montre que, seules les régions les plus jeunes, c'est-à-dire celles qui étaient situées à la périphérie du parenchyme vasculaire (PV) dans la racine normale, ont proliféré. Il est apparu des rudiments de zones génératrices (ZG) qui ont donné naissance à un cal homogène (C) sur leurs faces externes. Les ébauches de bourgeons (B) s'organisent à partir de ces plages méristématiques. V : Vaisseaux préexistants.

1°) Caractères généraux du développement des cultures.

Les expériences sont effectuées avec des fragments longs d'environ 2,5 cm. En raison de la polarité accusée que manifeste le parenchyme vasculaire, le comportement de ceux-ci est variable, selon que leur extrémité foliaire ou leur extrémité radicale est enfoncée dans le milieu de culture.

Lorsque la région foliaire est placée à l'opposé du milieu, elle se modifie très peu. Dès les premiers jours de la culture, elle produit quelques mamelons isolés, apparaissant toujours dans les régions jeunes du fragment, c'est-à-dire à la périphérie, tandis que les régions âgées ne prolifèrent pas. Par la suite, vers le quinzième jour, des ébauches de bourgeons deviennent visibles à la surface de ces cals. Ces ébauches évoluent en tiges feuillées, mais, toutefois, leur croissance est moins rapide que celle des bourgeons ayant pris naissance sur le parenchyme libérien. Enfin, il n'apparaît jamais de racines néoformées sur l'extrémité radicale des explantats. La figure 36 représente l'aspect d'une telle culture 24 jours après l'ensemencement.

Si l'on suit l'évolution structurale de la région foliaire des explantats, on constate que, dès les premiers jours après l'ensemencement, les cellules qui entourent les vaisseaux des régions périphériques, se recloisonnent activement et donnent naissance à des rudiments de zones génératrices ou à des plages méristématiques ; c'est à partir de ces régions dédifférenciées que se forment ultérieurement les méristèmes de bourgeons (fig. 37).

Si l'on cultive des prismes de parenchyme vasculaire d'Endive orientés d'une manière inverse, c'est-à-dire en plaçant leur région foliaire dans le substrat, on constate que l'extrémité radicale, isolée du milieu, se développe pour produire une volumineuse protubérance localisée dans les régions jeunes de l'explantat. Des bourgeons se différencient dans ce cal, vers le vingtième jour, c'est-à-dire avec environ 4 à 5 jours de retard par rapport à l'extrémité opposée. De façon correspondante, l'évolution de ces bourgeons en tiges feuillées est beaucoup moins rapide que celle des ébauches produites par la face foliaire (fig. 38).

Si l'on étudie l'évolution structurale de ce cal, on constate qu'une zone

Fig. 38. — Fragment de parenchyme vasculaire d'Endive ayant été cultivé pendant 24 jours dans une position telle que son extrémité foliaire soit enfoncée dans le milieu nutritif.

Un cal volumineux est apparu sur les régions jeunes du fragment. Ce cal a produit des bourgeons, qui évoluent en tiges feuillées, moins rapidement toutefois que les ébauches apparues sur l'extrémité foliaire (comparer avec la fig. 36).



génératrice libéro-ligneuse apparaît très tôt au niveau de la surface de section radicale. De façon comparable à ce que l'on observe lors de l'édification du cal foliaire, cette zone génératrice ne se développe que sur les régions jeunes de l'explantat, le parenchyme vasculaire âgé semblant avoir perdu tout pouvoir de prolifération. Ce cambium néoformé produit vers l'intérieur de nombreux vaisseaux aberrants, et régénère vers l'extérieur une mince couche de liber. Enfin, c'est à partir de cette région différenciée que prennent naissance les bourgeons (fig. 39).

2°) *Etude de l'action exercée par les bourgeons néoformés dans la région foliaire des explantats.*

Afin d'apprécier l'influence qu'exercent éventuellement les bourgeons

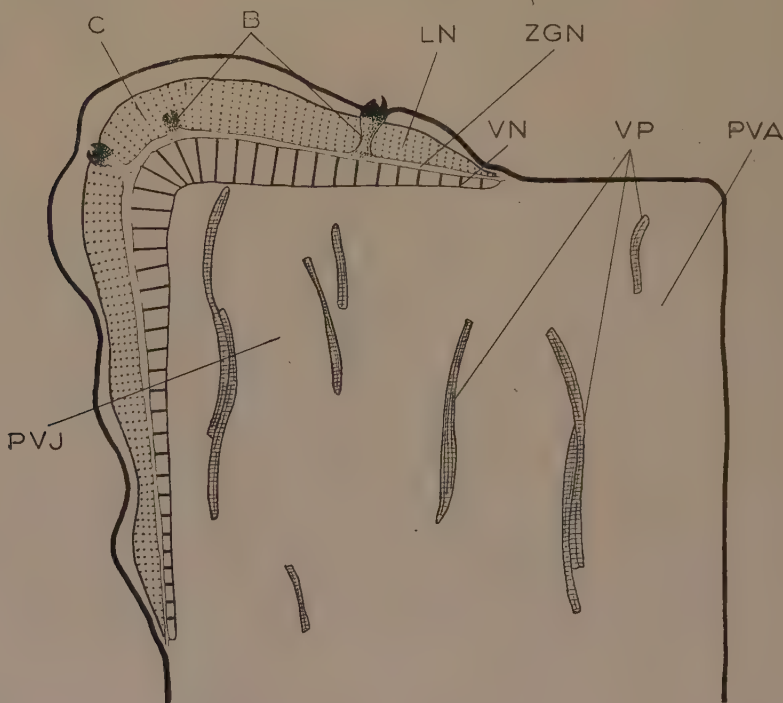


Fig. 39. — Coupe longitudinale radiale pratiquée dans l'extrémité radicale d'un fragment de parenchyme vasculaire d'Endive, après 19 jours de culture.

Le cal (C) résulte de la prolifération d'une zone génératrice (ZG) superficielle produite dès les premiers jours après l'ensemencement, par une série de recloisonnements orientés des cellules des régions les plus jeunes du parenchyme vasculaire (PVJ). La partie de l'explantat correspondant au centre de l'organe (PVA) n'a pas proliféré. Cette zone génératrice a formé une couche de liber vers l'extérieur (LN) et des vaisseaux de petit calibre (VN) vers l'intérieur. Des ébauches de bourgeons (B) se sont ensuite organisées au niveau de la région méristématique. VP : Vaisseaux préexistants.

sur les tissus sous-jacents, nous avons pratiqué périodiquement des coupes dans des prismes cultivés *in vitro*.

L'examen de ces coupes montre que les ébauches, édifiées à partir des rudiments de zone génératrice, semblent exercer, au cours de leur développement, une action différenciatrice s'étendant de proche en proche au sein de ces tissus modifiés. Cette action se traduit par une formation de tubes criblés et de vaisseaux. Les éléments conducteurs néoformés au sein du parenchyme vasculaire sont bien plus nombreux que ceux apparus sous

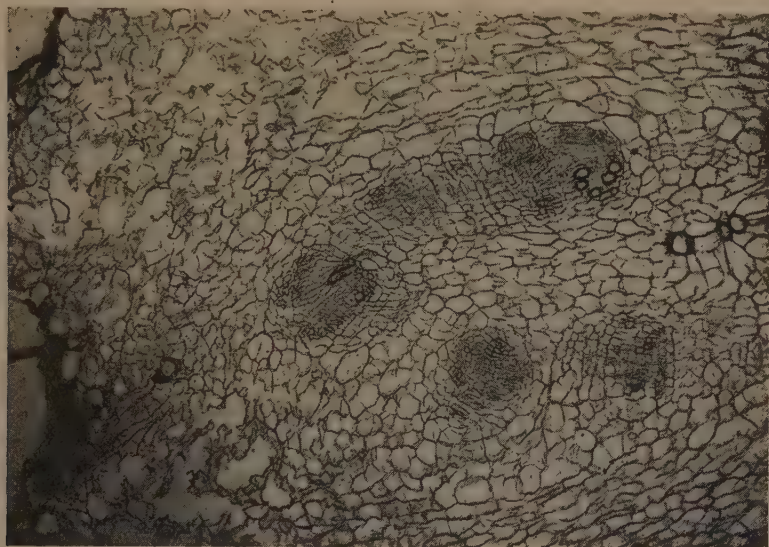


Fig. 40. — Coupe pratiquée transversalement dans un prisme de parenchyme vasculaire d'Endive après 18 jours de culture.

On remarque, à droite et à gauche, les vaisseaux préexistants de grande taille. Entre ces vaisseaux extrêmes, on observe une plage dans laquelle est apparu un rudiment de zone génératrice qui a produit des massifs de cellules ligneuses et libériennes sous l'influence d'un bourgeon long de 3 mm., situé au-dessus du plan de la figure. La coupe intéresse une région située à environ 2 mm. de la base du bourgeon.

des bourgeons se développant sur le parenchyme libérien. Ceci n'a rien de surprenant, car les modifications histologiques induites ici se produisent dans un tissu préalablement dédifférencié, possédant toutes les caractéristiques d'un méristème secondaire ; comme tel, ce tissu est susceptible de se comporter d'une manière analogue au cambium qui, ainsi qu'on le sait, peut donner naissance à de nombreux vaisseaux sous l'influence des pousses feuillées. L'aspect de ces néoformations, induites par les bourgeons apparaît nettement sur la figure 40, qui représente les phénomènes d'histogénèse observés en-dessous d'un bourgeon long de 3 mm., à une distance de

2 mm. environ de sa base. L'examen de coupes effectuées à des niveaux de plus en plus bas permet de constater que, d'une manière analogue à ce que l'on observe sur le cambium, l'abondance des formations conductrices diminue graduellement, à mesure que l'on s'éloigne de la base du bourgeon pour s'enfoncer dans le tissu sous-jacent. On constate, enfin, que cette action est polarisée, et ne s'exerce que dans le sens feuille-racine ; en effet, on n'observe aucune modification histologique au-dessus du point d'insertion d'un bourgeon apparu latéralement. La réalisation de telles observations présente d'ailleurs de sérieuses difficultés, car le nombre des ébauches néoformées par les fragments de parenchyme vasculaire est particulièrement élevé, et il est très délicat de séparer l'influence d'un bourgeon de celle des ébauches qui l'environnent.

3°) *Etude de l'action exercée par les bourgeons néoformés dans la région radicale des explantats.*

Lorsqu'on examine des coupes pratiquées dans la région radicale d'un explantat, la complexité de structure du cal, apparu spontanément dès les premiers jours de la culture, ne permet pas de discerner d'action nette, exercée par les bourgeons qui s'y développent.

B. — Influence histogène exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de parenchyme vasculaire de racine de Scorsonère.

GAUTHERET a signalé que les tissus de la racine d'une autre Composée, la Scorsonère, qui est une variété cultivée de *Scorzonera hispanica* L., bourgeonnent *in vitro*, quoique moins abondamment que ceux de l'Endive. Nous avons repris les recherches relatives précédemment en utilisant ce nouveau matériel.

Nous étudierons brièvement la structure anatomique des racines que nous avons utilisées, puis nous envisagerons le développement *in vitro* des explantats prélevés, et enfin l'influence histogène exercée par les bourgeons sur les tissus qui leur ont donné naissance.

a) STRUCTURE DE LA RACINE DE SCORSONÈRE.

Si l'on examine une coupe transversale pratiquée dans une racine de Scorsonère, on remarque immédiatement la disproportion qui existe entre la région centrale, constituée par du parenchyme vasculaire limité extérieurement par une mince ligne régulière, la zone génératrice, et la région externe formée par du parenchyme libérien. Le parenchyme vasculaire, composé de tissus cellulodiques dans lesquels rayonnent des files de vaisseaux, représente, en effet, les 4/5 du volume de la racine, tandis que le

parenchyme libérien est très mince ; ce parenchyme libérien comporte des cordons libériens, moins nettement individualisés que ceux que nous avons observés dans la racine d'Endive, et renferme, en outre, un réseau dense de pseudo-laticifères (fig. 41).

Lors des expériences de mise en culture, le liber et la zone génératrice sont éliminés. Les explantats que l'on cultive sont donc constitués uniquement par du parenchyme vasculaire.

b) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES.

Le mode de croissance des explantats varie très peu, que l'extrémité foliaire ou l'extrémité radicale des explantats soit enfoncée dans le milieu de culture. Quelques jours après l'ensemencement, la région des fragments enfoncée dans le milieu prend une teinte brune, qui devient rapidement presque aussi intense que celle des racines normales de Scorsonère. Dans

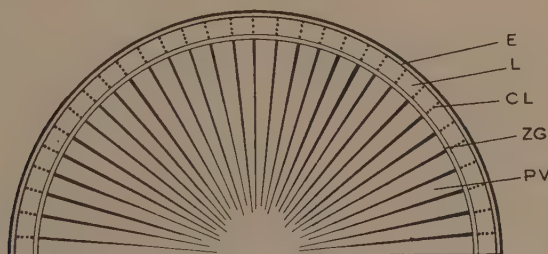


Fig. 41. — Schéma de la section transversale d'une racine de Scorsonère.

L'organe est limité extérieurement par une zone subérifiée (E). À l'intérieur, on trouve un mince anneau de liber (L) comportant des cordons libériens (CL), une zone génératrice libéro-ligneuse (ZG), et enfin un volumineux cylindre de parenchyme vasculaire (PV), dans lequel les vaisseaux sont disposés en files radiales.

tous les cas, on observe la formation d'un cal uniforme, assez mince, recouvrant toutes les régions des fragments. Le contact du milieu ne modifie en rien le développement de ce cal. Au bout de 20 jours de culture, des ébauches de bourgeons deviennent visibles sur l'extrémité foliaire des explantats, tandis que l'extrémité radicale n'en produit que 2 à 3 jours plus tard. Le milieu de culture ne semble pas inhiber le développement des ébauches apparues à son contact ; il est, en effet, fréquent de voir se développer des tiges feuillées sur l'extrémité foliaire de fragments, lorsque celle-ci est immergée dans le substrat. Les bourgeons de Scorsonère sont donc moins sensibles que ceux d'Endive à l'action inhibitrice exercée par le contact du milieu. Lorsqu'on veut étudier les modifications anatomiques provoquées éventuellement par les bourgeons radicaux, il faut éliminer tous les bourgeons formés sur la face opposée, afin d'éviter qu'ils ne trou-

blent les résultats ; signalons, enfin, qu'on n'observe jamais la formation de racines.

Les figures 42 et 43 représentent des cultures de parenchyme vasculaire de Scorsonère, ayant produit des bourgeons soit sur leur extrémité foliaire, soit sur leur extrémité radicale.



Fig. 42. — Fragment de parenchyme vasculaire de Scorsonère, ayant été cultivé pendant 30 jours de manière telle que son extrémité radicale soit enfoncée dans le milieu nutritif.

Le fragment a produit un cal d'épaisseur régulière sur toute sa surface. La région foliaire, qui est ici tournée vers le haut, a donné naissance à des pousses feuillées.



Fig. 43. — Fragment de parenchyme vasculaire de Scorsonère, ayant été cultivé pendant 30 jours de manière telle que son extrémité foliaire soit enfoncée dans le milieu nutritif.

Dans ce cas encore, le cal formé présente une épaisseur régulière sur toute la surface du fragment (comparer avec la fig. 42). L'extrémité radicale a produit des pousses feuillées se développant aussi activement que celles qui apparaissent dans la région foliaire, lorsque celle-ci est située à l'opposé du substrat.

Envisageons maintenant l'évolution anatomique du cal. Dès les premiers jours après l'ensemencement, il apparaît dans les régions superficielles du fragment une zone génératrice libéro-ligneuse continue, produite par une série de recloisonnements tangentiels. Vers l'extérieur, et sur toute sa surface, cette zone génératrice produit bientôt des éléments criblés, régénérant en même temps, au sein de ce tissu néoformé, un réseau très dense de pseudo-laticifères. Ceux-ci sont très facilement reconnaissables sur les

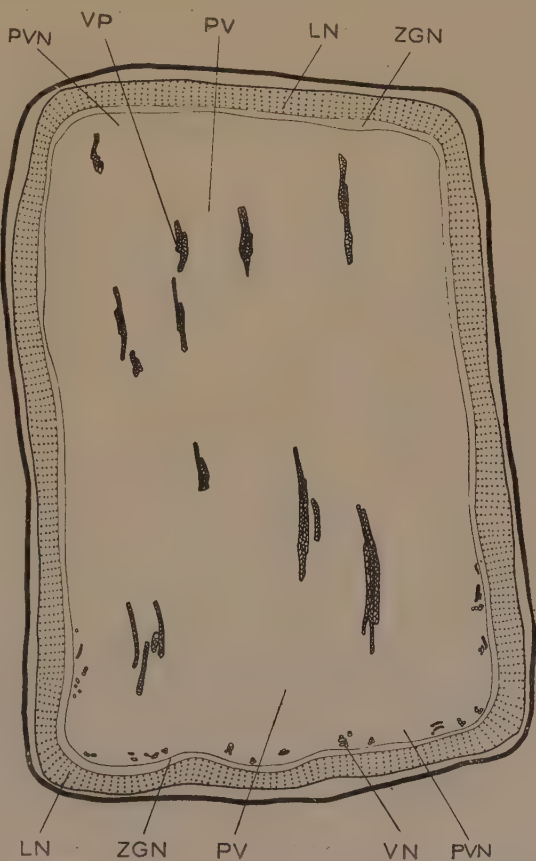
coupes anatomiques, grâce à la propriété qu'ils possèdent de se colorer en bleu noir, sous l'influence du bleu de méthylène. Vers l'intérieur, le cambium donne naissance à un parenchyme homogène. Jusqu'à présent, il est impossible de distinguer sur les coupes l'extrémité foliaire de l'extrémité radicale des explantats, car les éléments libériens néoformés sont aussi abondants sur une face que sur l'autre.

Mais vers le dixième jour, on constate que la zone génératrice néoformée donne naissance, dans la région radicale de l'explantat, à de nom-

Fig. 44. — Coupe pratiquée sur toute la longueur d'un fragment de parenchyme vasculaire de *Scorsonère* ayant été cultivé pendant 15 jours.

La face foliaire est tournée vers le haut. On remarque immédiatement que l'épaisseur du cal formé est la même sur toute la surface de l'explantat. Ce cal s'est édifié grâce à la prolifération d'une zone génératrice néoformée (ZGN) dans les régions superficielles du fragment dès les premiers jours après l'ensemencement.

Ce cambium a produit, vers l'extérieur, une couche continue et régulière de liber (LN) ; vers l'intérieur, il a donné naissance à un parenchyme vasculaire (PVN). Au niveau de la face radicale, quelques vaisseaux de petite taille (VN) se sont différenciés dans ce parenchyme, alors que l'extrémité foliaire est restée homogène. La présence de ces vaisseaux est le seul caractère qui permette de distinguer le pôle foliaire de l'extrémité opposée de l'explantat. PV : parenchyme vasculaire, VP : vaisseaux préexistants.



breux vaisseaux de petite taille, alors qu'elle ne produit aucun élément lignifié au niveau du pôle foliaire. La figure 44 représente une coupe longitudinale pratiquée, après quinze jours de culture, dans un explantat dont l'extrémité foliaire était placée à l'opposé du milieu. Cette coupe intéresse toute la longueur du fragment ensemencé. Nous ne représenterons pas une section pratiquée dans un objet cultivé en position inverse, car l'évolution anatomique du cal n'est pas influencée par le contact du substrat.

Enfin, des ébauches de bourgeons s'édifient au sein des tissus néoformés, pratiquement au niveau de la zone génératrice.

c) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS NÉOFORMÉS DANS LA RÉGION FOLIAIRE DES EXPLANTATS.

Nous avons étudié les modifications histologiques exercées par les bourgeons sur les tissus sous-jacents, en pratiquant des coupes dans des ex-

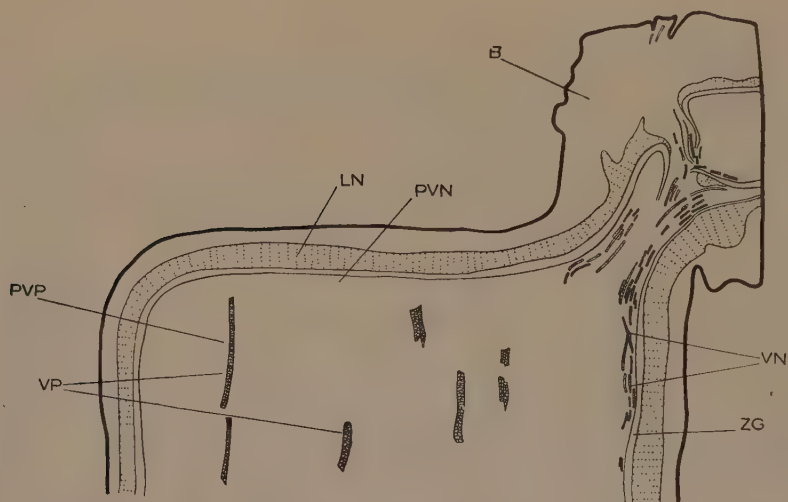


Fig. 45. — Coupe longitudinale pratiquée dans un fragment de parenchyme vasculaire de *Scorsonère* ayant produit une pousse feuillée, longue de 5 cm., dans sa région foliaire.

La coupe passe par l'axe du bourgeon (B). Il s'est différencié, sur la face interne de la zone génératrice (ZG) apparue à la périphérie de l'explantat dès les premiers jours de la culture, des vaisseaux de petite taille (VN), qui sont en continuité avec ceux que l'on observe à la base de la tige. Remarquer que ces vaisseaux apparaissent uniquement dans la région du cambium située en-dessous du bourgeon.

PVP : Parenchyme vasculaire de l'explantat, PVN : Parenchyme vasculaire néoformé, VP : Vaisseaux préexistants, LN : Liber néoformé

plantats portant des bourgeons dont la taille variait entre quelques dixièmes de millimètre et quatre ou cinq centimètres. Nous avons effectué une étude préliminaire des phénomènes sur des coupes longitudinales; en effet, la zone génératrice néoformée dans les régions superficielles est peu sinueuse, car elle s'est édifiée parallèlement aux surfaces limitantes de l'explantat. Cette circonstance permettait, en examinant une section passant par l'axe du bourgeon, d'obtenir une indication sur la polarité du processus.

La figure 45 représente une telle coupe passant par l'axe d'un bourgeon

développé sur l'extrémité foliaire d'un fragment de parenchyme vasculaire de *Scorsonère*. On constate qu'il est apparu des éléments conducteurs, en continuité avec ceux qu'on observe à la base de la tige, au niveau du cambium néoformé. Ce phénomène est polarisé, car toutes les formations

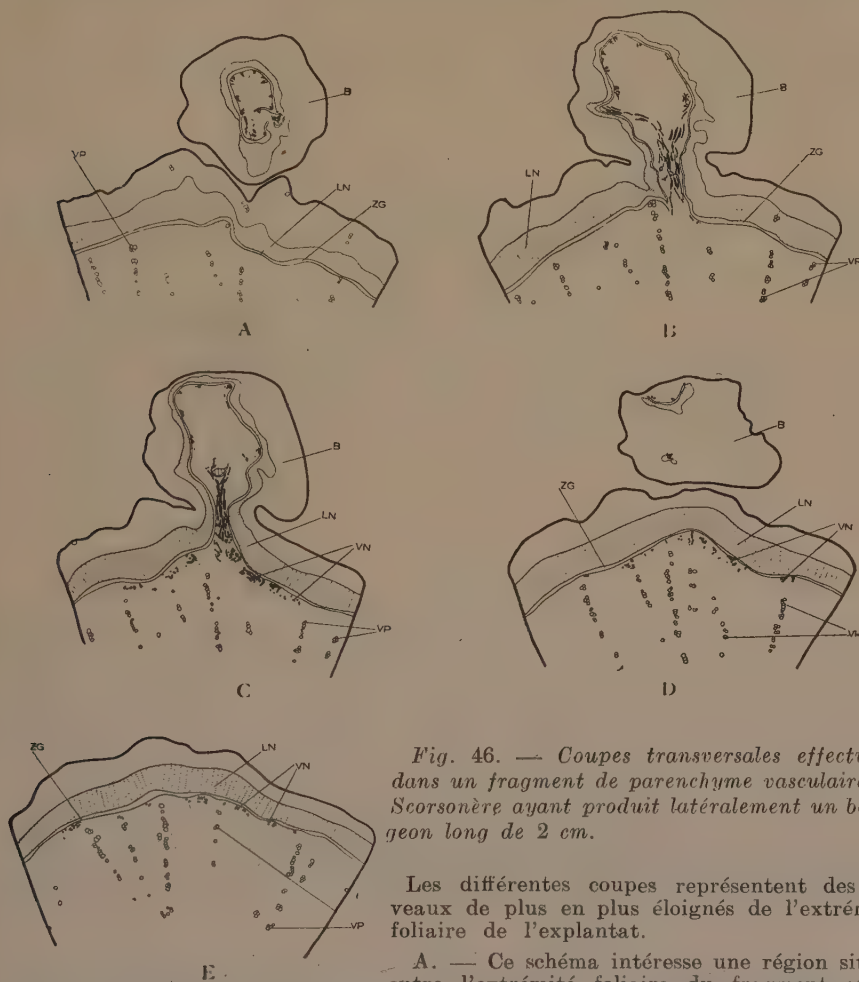


Fig. 46. — Coupes transversales effectuées dans un fragment de parenchyme vasculaire de *Scorsonère* ayant produit latéralement un bourgeon long de 2 cm.

Les différentes coupes représentent des niveaux de plus en plus éloignés de l'extrémité foliaire de l'explantat.

A. — Ce schéma intéresse une région située entre l'extrémité foliaire du fragment et le point d'insertion du bourgeon (B). On constate que le cambium néoformé (ZG) n'a donné naissance à aucun vaisseau.

B et C. — Ces coupes schématisent deux niveaux différents du point d'insertion du bourgeon. Remarquer qu'il y a une continuité entre les éléments conducteurs visibles à la base de la tige, et ceux que produit le cambium (VN).

D et E. — Ces figures représentent des régions situées entre le point d'insertion du bourgeon et l'extrémité radicale de l'explantat. A mesure que l'on s'éloigne de la base de la pousse feuillée, le nombre des vaisseaux néoformés par la zone génératrice diminue régulièrement.

VP. : Vaisseaux préexistants, LN : Liber néoformé.

conductrices différenciées sous le bourgeon se recourbent, après avoir traversé la région méristématique secondaire, pour se poursuivre exclusivement vers l'extrémité radicale de l'explantat. De plus, la zone génératrice prolifère uniquement dans ses régions situées au-dessous de l'endroit d'insertion de la pousse feuillée.

Nous avons complété cette étude par l'examen de coupes transversales en série, et nous allons considérer maintenant des sections pratiquées dans un explantat qui portait un bourgeon apparu latéralement (fig. 46).



Fig. 47. — Coupe longitudinale pratiquée dans un fragment de parenchyme vasculaire de *Scorsnère* ayant produit une pousse feuillée, longue de 6 cm., dans sa région radicale.

La coupe passe par l'axe du bourgeon (B). On constate que les vaisseaux (VN) qui apparaissent au sein de l'explantat, dans le prolongement de ceux que l'on observe à la base de la tige feuillée, se recourbent vers le haut après avoir traversé le cambium néoformé (ZG). Aucun remaniement ne s'effectue donc dans le sens racine-feuille. Il est impossible de suivre, sur une grande distance, ces formations conductrices, car elles se perdent rapidement parmi les nombreux vaisseaux apparus spontanément lors de l'édification du cal. PVP : Parenchyme vasculaire de l'explantat, PVN : Parenchyme vasculaire néoformé, VP : Vaisseaux préexistants, LN : Liber néoformé.

La première coupe montre la structure du fragment de racine dans une région située entre le point d'insertion du bourgeon et l'extrémité foliaire de l'explantat. On constate que la zone génératrice n'a pas proliféré. En haut du schéma, on voit la base de la pousse feuillée qui possède la structure d'une tige à peu près normale. Les deux schémas suivants intéressent le point d'insertion du bourgeon sur le fragment de racine, et permettent d'observer le raccord des éléments conducteurs de la tige avec ceux apparaissant dans l'explantat. On remarque que la zone génératrice néoformée sur le fragment de parenchyme vasculaire a donné naissance à de

nombreux vaisseaux. Les deux dernières coupes, montrant la structure de l'explantat dans des régions situées entre le point d'insertion du bourgeon et l'extrémité radicale, révèlent que la production des cellules ligneuses par la zone génératrice décroît régulièrement à mesure que l'on se rapproche de la région radicale. Ce résultat confirme de façon très nette ce que nous avons déjà signalé pour l'Endive.

d) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS NÉOFORMÉS DANS LA RÉGION RADICALE DES EXPLANTATS.

L'examen de la figure 47, qui représente une coupe longitudinale pratiquée dans la région radicale d'un fragment de racine de Scorsonère ayant développé un bourgeon, montre que l'inversion de la polarité du fragment n'est qu'apparente, puisque les éléments cribro-vasculaires induits s'orientent immédiatement vers l'extrémité radicale.

Comme dans le cas de l'Endive étudié précédemment, l'étude de coupes transversales ne permet pas de discerner, parmi les nombreuses formations conductrices apparaissant spontanément à l'extrémité radicale du fragment, quelle part prend effectivement le bourgeon dans la vascularisation plus ou moins accentuée du cal.

*
* *

En résumé, tout se passe comme si les bourgeons développés sur des fragments de parenchyme vasculaire de Scorsonère induisaient la production de formations libéro-ligneuses au sein de la zone méristématique continue, qui s'est différenciée dans les régions superficielles de l'explantat. Cette action différenciatrice ne s'exercerait que dans le sens feuille-racine.

C. — Influence exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de rhizome de *Crambe maritima*, comportant du liber, du parenchyme vasculaire, et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'essayer de généraliser les résultats obtenus précédemment, en nous adressant à des tissus provenant d'une plante appartenant à une famille très différente de celle sur laquelle nous avons expérimenté. Nous avons choisi comme matériel le *Crambe maritime* ou Chou maritime (*Crambe maritima* L. Crucifères), qui a déjà été utilisé maintes fois lors de recherches sur la polarité végétale, et en particulier par JONES et par PRIESTLEY. Cette espèce nous a paru favorable, car ses tissus possèdent la faculté de régénérer de nombreux bourgeons, et manifestent, en outre, une polarité très accusée.

Nous étudierons successivement la structure anatomique de l'organe sur lequel nous avons travaillé, puis le mode de développement de nos cultures et, enfin, les remaniements histologiques produits, dans les tissus sous-jacents, par les bourgeons néoformés.

a) STRUCTURE DU RHIZOME DE CRAMBE MARITIMA.

Nous avons rencontré quelques difficultés pour définir exactement la nature de l'organe dont nous nous sommes servi. Cet organe est un axe souterrain cylindrique, peu ramifié, régénérant au printemps un bouquet de feuilles à l'une de ses extrémités. Cet axe souterrain est généralement considéré comme une racine. Or, divers caractères morphologiques et anatomiques nous ont amené à douter de cette affirmation. C'est ainsi que cette « racine » possède des écailles foliaires, ce qui est un caractère de rhizome. Pour approfondir cette question, nous avons réalisé des observations anatomiques.

Si l'on examine, à faible grossissement, une coupe transversale pratiquée dans un de ces organes, on constate qu'il est limité extérieurement par une couche de suber, qui est recouverte de place en place par des cellules dont la membrane externe est fortement cutinisée; nous pensons que cette assise serait un épiderme en voie d'exfoliation. On observe, ensuite, quelques assises de parenchyme cortical, un anneau discontinu de fibres péricycliques, puis du liber, constitué par des files radiales de cellules criblées, séparées par un parenchyme cellulosique banal; ce liber dérive du fonctionnement de la zone génératrice libéro-ligneuse, qui se présente comme une mince ligne très peu sinueuse; cette zone génératrice a produit, vers l'intérieur, un anneau de parenchyme vasculaire comportant des files radiales de vaisseaux de gros calibre, séparés par des rayons médullaires bien individualisés. A la limite interne du parenchyme vasculaire, on observe les vaisseaux de première formation, en voie de régression, généralement englobés dans des îlots de sclérenchyme. La présence de ce sclérenchyme ne nous a pas permis de déterminer, avec une certitude absolue, le sens de différenciation de ces éléments, bien que, dans la plupart des échantillons étudiés, nous ayons observé une différenciation centrifuge. Enfin, tout à fait au centre de l'organe, on trouve un parenchyme médullaire bien développé, formé de grandes cellules, et pourvu, à sa périphérie, de curieuses formations cribro-vasculaires. Celles-ci sont constituées par une zone génératrice fermée sur elle-même, dans la région externe de laquelle on observe quelques vaisseaux de gros calibre, et dont la région interne renferme quelques cellules criblées à membrane épaisse. Ces formations cyclisées sont des faisceaux cribro-vasculaires internes, que l'on peut suivre sur une grande longueur dans l'organe.

Ces différents caractères nous incitent à penser que le matériel dont nous nous sommes servi est un rhizome, et non une racine. Toutefois, avant

de nous prononcer d'une façon définitive, nous pensons qu'il conviendrait d'étudier en détail l'évolution anatomique complète du *Crambe*.

Les régions périphériques des rhizomes sont éliminées lors des opérations de désinfection, et la figure 48 représente une coupe transversale pratiquée dans un explantat au moment de l'ensemencement. Celui-ci comporte une mince couche de parenchyme libérien, la portion de zone génératrice correspondante, ainsi que du parenchyme vasculaire et médullaire.

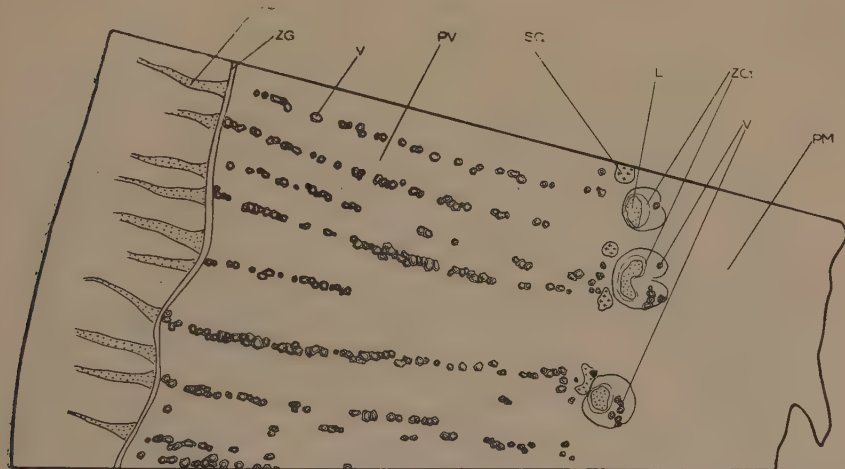


Fig. 48. — Coupe transversale effectuée, au moment de l'ensemencement, dans un fragment de rhizome de *Crambe maritima*.

De gauche à droite, on distingue le parenchyme libérien, contenant des cordons libériens (CL), la zone génératrice (ZG), le parenchyme vasculaire (PV) présentant des files radiales de vaisseaux (V), et enfin le parenchyme médullaire (PM). A la limite des parenchymes vasculaire et médullaire, on observe de curieux faisceaux cribro-vasculaires cyclisés qui sont constitués, de l'intérieur vers l'extérieur, par quelques cellules criblées (L), une zone génératrice (ZGI), et quelques vaisseaux. Remarquer les massifs de sclérenchyme (SC) qui englobent très fréquemment les vaisseaux primaires en voie de régression.

b) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES.

Le comportement des explantats se révèle très différent selon que l'extrémité foliaire ou l'extrémité radicale est enfoncée dans le milieu de culture.

Dans le premier cas, c'est-à-dire lorsque l'extrémité foliaire est à l'opposé du substrat, on voit apparaître sur celle-ci un cal irrégulier, peu volumineux qui s'édifie au niveau du parenchyme vasculaire. Il se forme, en outre, de petites protubérances dans la région située à la limite des parenchymes vasculaire et médullaire. Le liber ne prolifère absolument



Fig. 49. — Coupe transversale pratiquée dans l'extrémité foliaire d'un fragment de rhizome de *Crambe maritima*, ayant été cultivé pendant 8 jours de manière telle que son extrémité radicale soit enfoncée dans le milieu.

Le fragment s'est fissuré au niveau de la zone génératrice (ZG), par suite de la prolifération des régions jeunes du parenchyme vasculaire (PV) ; il est apparu, dans les régions périphériques de ce dernier tissu, des rudiments de zones génératrices, à partir desquels se sont édifiés des bourgeons (B). Le liber (L) n'a pas proliféré.

On distingue, à la limite des parenchymes vasculaire et médullaire (M), des faisceaux cribro-vasculaires préexistants (ZGI) et des zones génératrices cyclisées néoformées (ZGn). Toutefois, dans ce cas, cette région de l'explantat n'a guère proliféré, alors que sur d'autres échantillons, elle donne naissance à un cal très volumineux (voir fig. 51). CL : Cordon libérien, VP : Vaisseaux préexistants, SC : Sclérenchyme.

pas; très fréquemment, le fragment se fissure au niveau de la zone génératrice, par suite d'une augmentation de surface du parenchyme vasculaire, due à la multiplication active des régions externes de celui-ci. Six jours environ après la mise en culture, un grand nombre de bourgeons contigus, dont l'ensemble offre l'aspect de dents de scie régulières, apparaissent sur la zone génératrice. D'autres ébauches, en nombre beaucoup plus restreint, s'organisent dans les cals formés par le parenchyme vasculaire.

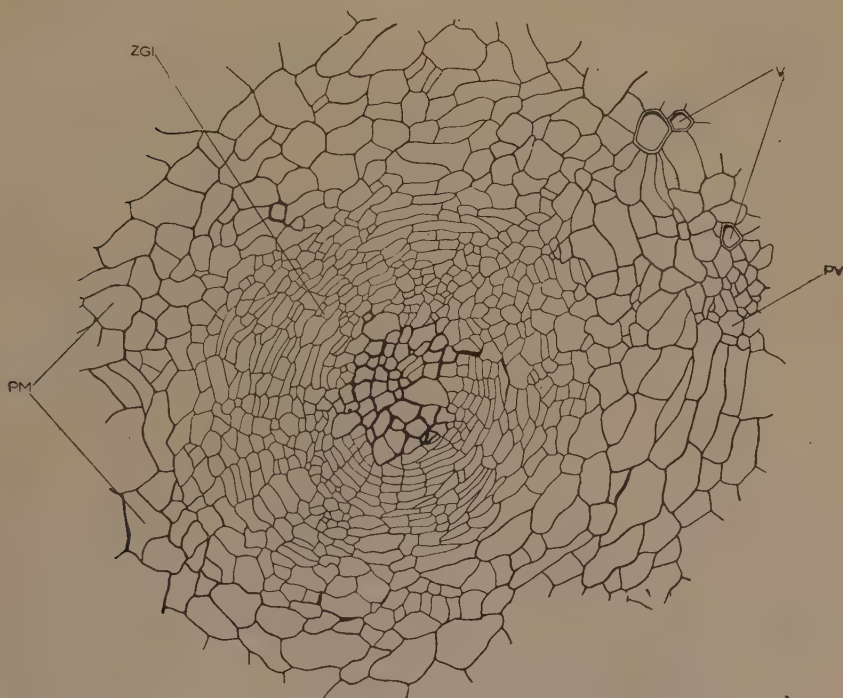


Fig. 50. — Aspect d'une plage dédifférenciée apparue dans la région interne du parenchyme vasculaire d'un fragment de rhizome de *Crambe maritima*.

La figure représente une section transversale d'un des cylindres dédifférenciés apparus à la limite des parenchymes vasculaire (PV) et médullaire (PM), après 5 jours de culture.

ZGI : Zone génératrice interne, V : Vaisseaux préexistants.

Dans le second cas, c'est-à-dire lorsque l'extrémité radicale des explants est placée à l'opposé du substrat, on observe des phénomènes très différents : l'extrémité radicale prolifère très rapidement pour donner naissance à un cal volumineux, édifié sur le parenchyme vasculaire et la zone génératrice, et à partir duquel s'organisent des bourgeons, qui apparaissent dans des régions quelconques.

L'étude histologique de fragments dont l'extrémité foliaire était isolée du milieu, révèle que deux processus bien différents président à l'édification des cals. Dans la région externe du parenchyme vasculaire, les cellules banales entourant les massifs vasculaires prolifèrent activement, de façon régulière, pour donner des rudiments de zones génératrices. C'est à partir de ces zones génératrices que s'édifient les bourgeons (fig. 49). D'autres



Fig. 51. — Coupe transversale pratiquée dans l'extrémité foliaire d'un fragment de rhizome de *Crambe maritima*, ayant été cultivé pendant 8 jours, de manière telle que son extrémité radicale soit enfoncée dans le milieu.

On remarque que la région située à la limite des parenchyms vasculaire et médullaire de cet explantat, a donné naissance à un cal volumineux, à partir duquel se sont développés de nombreux bourgeons. Les régions jeunes du parenchyme vasculaire ont, elles aussi, proliféré (comparer avec la fig. 49).

phénomènes de prolifération s'observent dans la région interne du parenchyme vasculaire, à la limite de la moelle : certaines cellules se recloisonnent d'une manière concentrique pour donner naissance à des zones génératrices libéro-ligneuses cyclisées, analogues à celles que l'on voit dans le rhizome normal. Ces phénomènes de dédifférenciation intéressent simultanément toute une série de cellules situées parallèlement à l'axe de l'or-

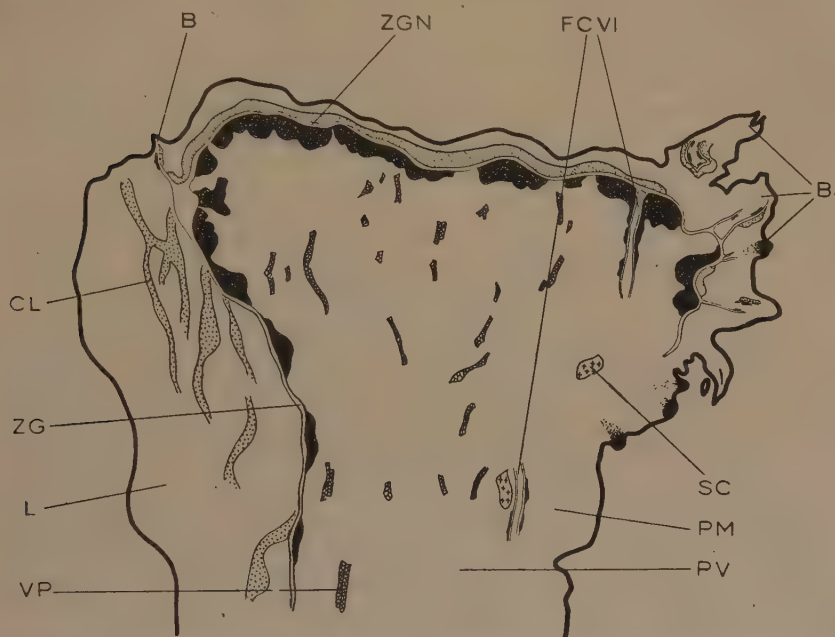


Fig. 52. — Coupe longitudinale pratiquée dans l'extrémité radicale d'un fragment de rhizome de *Crambe maritime*, ayant été cultivé pendant 8 jours, de manière telle que son extrémité foliaire soit enfoncée dans le milieu.

Le cal résulte de la prolifération d'une zone génératrice (ZGN) apparue dès les premiers jours de la culture sur les parenchymes vasculaire (PV) et médullaire (PM). Ce cambium néoformé est raccordé à la zone génératrice normale (ZG) ainsi qu'à celles des formations cribro-vasculaires internes (FCVI). Tous ces méristèmes secondaires, préexistants ou néoformés, ont produit de nombreux éléments cribro-vasculaires, et des bourgeons (B) se sont édifiés à leur niveau. Le liber (L) n'a pas proliféré.

CL : Cordon libérien, VP : Vaisseaux préexistants.

gane, si bien que les formations dédifférenciées affectent l'aspect de cylindres qui, vus en section transversale (fig. 50), prennent l'apparence de plages circulaires. Des ébauches de bourgeons s'édifient à partir de ces nappes cyclisées néoformées, ou à partir des formations similaires préexistantes dans le rhizome (fig. 51.)

L'évolution structurale des néoformations produites par l'extrémité ra-

dicale des explantats est assez différente; le volumineux cal que produit cette région s'édifie par la prolifération d'une zone génératrice libéro-ligneuse, apparaissant très tôt dans les régions superficielles des parenchymes vasculaire et médullaire. Cette zone génératrice néoformée produit vers l'intérieur de nombreux vaisseaux et, vers l'extérieur, du liber; l'ensemble forme une plage libéro-ligneuse raccordée à la zone génératrice normale de l'explantat, ainsi qu'aux faisceaux cribro-vasculaires internes existant dans le fragment lors de la mise en culture ou néoformés dès les premiers jours après l'ensemencement. On constate, en outre, que la zone génératrice normale a proliféré intensément, ainsi d'ailleurs que les cambiums des faisceaux cribro-vasculaires internes, pour donner de nombreux éléments conducteurs (fig. 52). Des ébauches de bourgeons s'organisent à partir de toutes les régions méristématiques.

c) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS NÉOFORMÉS DANS LA RÉGION FOLIAIRE DES EXPLANTATS.

Nous serons assez bref sur les résultats que nous avons obtenus lors de l'examen de coupes anatomiques sériées, pratiquées à intervalles réguliers dans l'extrémité foliaire des explantats ensemencés. En effet, les différents types d'observations que nous avons effectués se rapprochent beaucoup de ceux que nous avons signalés lors de l'étude du bourgeonnement de la zone génératrice et du parenchyme vasculaire de l'Endive, ainsi que des indications fournies par le parenchyme vasculaire de Scorsonère. Nous envisageons successivement les modifications histologiques se produisant au-dessous de bourgeons apparus au niveau de la zone génératrice, puis du parenchyme vasculaire, et enfin du parenchyme médullaire.

1°) *Bourgeons néoformés au niveau de la zone génératrice.*

L'examen de coupes, pratiquées dans des explantats portant des ébauches très jeunes, montre que la zone génératrice donne naissance à des éléments cribro-vasculaires, dans ses régions situées strictement en-dessous des points végétatifs (fig. 53). En étudiant des coupes intéressant des niveaux de plus en plus éloignés de la base des bourgeons, on constate que l'abondance des néoformations produites diminue à mesure que l'on s'éloigne de la face foliaire.

Si l'on observe ensuite des prismes portant de nombreux bourgeons en voie de développement actif, on voit que la zone génératrice prolifère d'une façon continue, et il devient alors difficile de discerner, parmi les nombreux éléments conducteurs qu'elle produit, la part qui revient à un bourgeon déterminé.

Ces résultats sont absolument identiques à ceux que nous avons obtenus lors de l'étude des processus d'histogénèse provoqués par les ébauches

édifiées au niveau de la zone génératrice de fragments d'Endive, ou, mieux encore, des zones génératrices fragmentaires apparues sur le parenchyme vasculaire jeune du même matériel.

2°) Bourgeons néoformés au niveau du parenchyme vasculaire.

Peu de bourgeons apparaissent sur la surface de section foliaire elle-même, les ébauches s'édifiant surtout au voisinage de celle-ci, sur les faces latérales des explantats. De ce fait, il est très facile d'étudier la polarité des remaniements histologiques se produisant dans les tissus sous-jacents.

L'examen de coupes transversales sériées, pratiquées dans les explantats à des niveaux de plus en plus éloignés de leur extrémité foliaire, per-

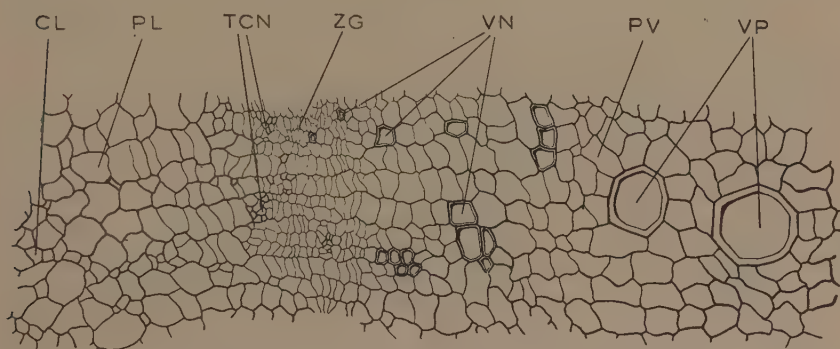


Fig. 53. — Coupe pratiquée dans la région foliaire de la zone génératrice d'un fragment de rhizome de *Crambe maritima* ayant produit des bourgeons.

La figure intéresse la portion de zone génératrice (ZG) située en-dessous d'une ébauche longue de 3 mm. à $2.600\ \mu$ de la surface du cal. On constate que la zone génératrice a proliféré pour donner des vaisseaux de petit calibre (VN) et des tubes criblés néoformés (TCN). Les régions voisines, ne portant pas de bourgeon, n'ont manifesté aucune activité.

PL : Parenchyme libérien, CL : Cordon libérien, PV : Parenchyme vasculaire, VP : Vaisseaux préexistants.

met de constater les phénomènes suivants : dans la région située entre le pôle foliaire et le point d'insertion du bourgeon, les zones génératrices fragmentaires qui sont apparues spontanément à la verticale de celui-ci n'ont pas proliféré. Au niveau du point d'insertion, des éléments conducteurs, prolongeant ceux de la tige, traversent horizontalement le cal, et se raccordent à un de ces cambiums néoformés, qui prolifère alors pour donner des vaisseaux et des tubes criblés. L'intensité de cette prolifération diminue ensuite, à mesure que l'on se rapproche de l'extrémité radicale. Ces phénomènes sont identiques à ceux que nous avons déjà signalés pour les parenchyms vasculaires d'Endive et de Scorsonère.

3°) Bourgeons néoformés au niveau du parenchyme médullaire.

Nous avons signalé précédemment que les ébauches de bourgeons, qui apparaissent à la limite des parenchymes vasculaire et médullaire, sont produites par les zones méristématiques cyclisées, néoformées ou préexistantes. Dans les deux cas on observe, au-dessous du point de formation des

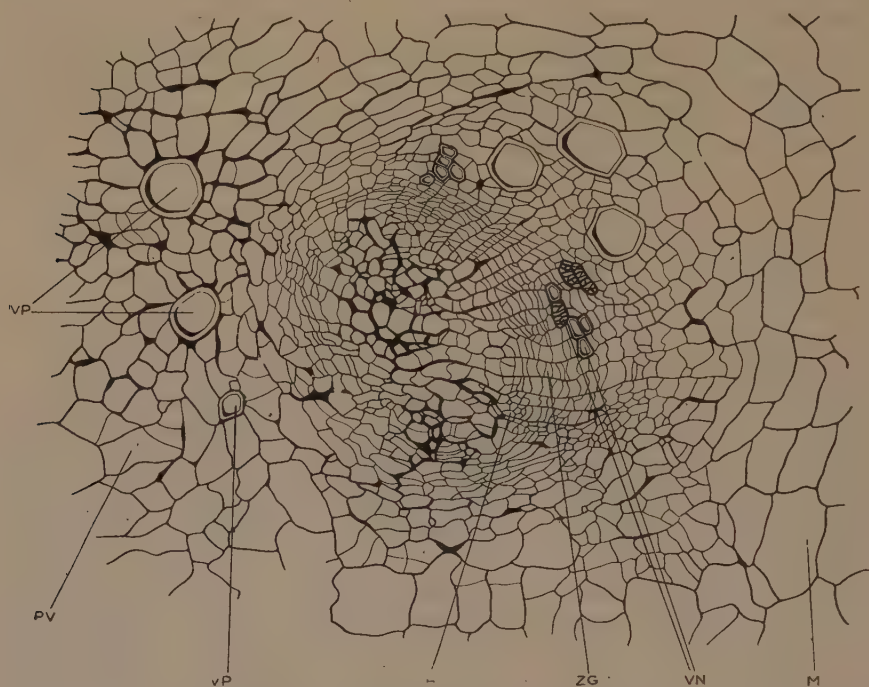


Fig. 54. — Modifications histologiques apparues en-dessous d'un bourgeon néoformé au sein d'une plage dédifférenciée.

On constate que la région externe de la zone génératrice cyclisée (ZG) a produit des vaisseaux de petit calibre (VN) tandis que sa face interne a donné naissance à des tubes criblés (L).

M : Parenchyme médullaire, PV : Parenchyme vasculaire, VP : Vaisseaux préexistants.

méristèmes primaires, une différenciation d'éléments cribro-vasculaires, polarisée dans le sens feuille-racine. On distingue facilement, à côté des tubes criblés préexistants, à membrane épaisse, des formations libériennes qui se différencient à l'intérieur de la zone génératrice. Les éléments lignifiés se forment, par contre, à la périphérie de celle-ci (fig. 54). Ainsi, au sein de ces formations dédifférenciées aberrantes, tout se passe encore comme si les bourgeons exerçaient une action histogène se traduisant par une formation polarisée d'éléments conducteurs.

d) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS NÉOFORMÉS DANS LA RÉGION RADICALE DES EXPLANTATS.

L'examen de coupes en série, pratiquées dans des explantats portant des bourgeons sur leur extrémité radicale, ne permet pas de suivre, parmi les formations libéro-ligneuses édifiées spontanément, les éléments cribro-vasculaires formés dans le fragment à partir de la base des pousses feuillées. Toutefois, pas plus que sur les différents matériels étudiés précédemment, nous n'avons pu mettre en évidence un forçage de la polarité naturelle des explantats, car nous n'avons jamais observé d'action différenciatrice s'exerçant sur les tissus sous-jacents, non modifiés par la culture.

*
* *

En résumé, les observations que nous avons effectuées sur des fragments de rhizome de Crambe ayant bourgeonné spontanément *in vitro* nous permettent de confirmer et d'étendre les résultats que nous avons obtenus pour l'Endive et la Scorsonère.

Nous avons constaté, dans ce cas encore, que les bourgeons semblent exercer sur les tissus sous-jacents une action histogène polarisée, se réduisant ici à une différenciation d'éléments conducteurs au sein de régions préalablement dédifférenciées.

II. — Influence histogène
exercée par les bourgeons néoformés
sur un tissu présentant une faible polarité
(tissu cambial d'Orme)

Nous avons examiné jusqu'ici les réactions de différents tissus présentant une polarité bien accusée. Nous allons envisager, maintenant, les modifications anatomiques se manifestant sous l'influence de bourgeons néoformés sur un matériel à peu près dépourvu de polarité, le tissu cambial d'Orme (*Ulmus campestris* L.). Ce tissu possède la propriété de proliférer *in vitro*, et de donner naissance à des bourgeons, ainsi que l'ont établi les recherches de GAUTHERET. Cet auteur a montré, en particulier, que la formation du cal s'effectuait de façon régulière sur toute la face cambiale de l'explantat, et que la localisation des bourgeons néoformés était liée presque uniquement aux conditions hygrométriques. Nous nous sommes demandé si cette très faible polarité morphologique correspondait à une absence totale de polarité anatomique, et nous avons entrepris cette étude en espérant que le sens de propagation de l'action histogène exercée éventuellement par les bourgeons nous permettrait de répondre à cette question.

Nous étudierons succinctement la structure des explantats ensemencés, puis nous envisagerons leur développement *in vitro*, et nous examinerons enfin les modifications anatomiques apparues dans le cal en-dessous des tiges feuillées néoformées.

A. — Structure du tissu cambial d'Orme

En examinant la figure 55, qui représente une coupe pratiquée dans un fragment de tissu cambial au moment de l'ensemencement, on constate que



Fig. 55. — Schéma représentant une coupe transversale pratiquée dans un fragment de tissu cambial d'Orme au moment de sa mise en culture.

Le tissu cambial (ZG) est supporté par une mince lame de liber (L), présentant des rayons médullaires (RM) bien individualisés.

la zone génératrice, formée de quelques assises de cellules à membranes minces, est supportée par une lame de tissu libérien, traversée par des rayons médullaires.

B. — Caractères généraux du développement des cultures

Nous n'avons opéré que sur des explantats placés horizontalement à la surface du milieu de culture : étant donné que le contact du milieu inhibe



Fig. 56. — Fragment de tissu cambial d'Orme, après 40 jours de culture.

La face cambiale de l'explantat, qui est ici tournée vers le haut, a produit, sur toute sa longueur, un cal d'épaisseur régulière, à partir duquel s'est développée une vigoureuse pousse feuillée. Observer sur le liber, qui était au contact du milieu, une volumineuse protubérance formée par des cellules géantes. Il n'apparaît jamais de racines.

le développement des tissus, ceux-ci ont été orientés de façon telle que leur face cambiale soit à l'opposé du substrat.

Dès les premiers jours après l'ensemencement, la face cambiale du frag-

ment se recouvre d'un duvet incolore, formé de courts pseudo-thalles (1), au-dessous desquels apparaissent bientôt des massifs parenchymateux. Ces néoformations ne produisent pas de chlorophylle, bien que les cultures soient exposées à la lumière. L'épaisseur du cal est la même sur toute la

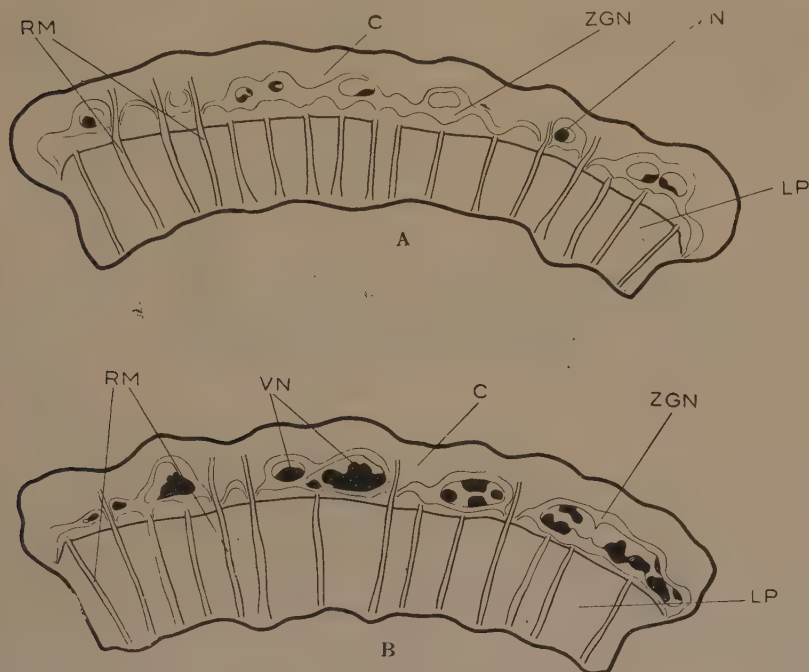


Fig. 57. — Coupes transversales pratiquées dans un fragment de tissu cambial d'Orme, après 18 jours de culture.

A. — La coupe intéresse l'extrémité foliaire de l'explantat. On distingue, dans le cal (C) formé d'un parenchyme homogène, des zones génératrices cyclisées (ZGN), dont la région interne a produit quelques vaisseaux (VN). Ces plages cyclisées sont en réalité la section de cylindres dédifférenciés s'étendant sur toute la longueur de l'explantat.

B. — Section pratiquée dans l'extrémité radicale de la même culture. Remarquer que les zones génératrices ont donné naissance, dans cette région, à de très nombreux vaisseaux.

LP : Liber, RM : Rayons médullaires.

(1) GAUTHERET a donné le nom de pseudo-thalle à des files pluricellulaires très ramifiées, analogues au thalle de certains Champignons, dont la formation est due, semble-t-il, à ce qu'au début de la culture la prolifération n'est pas généralisée, mais affecte seulement certaines cellules disséminées à la surface du tissu. Chacun de ces éléments, en voie de multiplication active, est le point de départ d'un pseudo-thalle qui demeure relié au tissu préexistant par un pédicelle formé d'une simple file de cellules. Les pseudo-thalles ne sont pas spéciaux aux tissus cultivés *in vitro*, mais ont déjà été signalés, à l'occasion de recherches réalisées sur la cicatrisation des plaies, sous le nom de « Wundhaare » (MAGNUS).

longueur de l'explantat; on ne décèle aucune différence entre le comportement de l'extrémité radicale et celui de l'extrémité foliaire. La face libérienne, constituée en majeure partie par des éléments différenciés, ne produit que quelques mamelons au niveau des rayons médullaires. Ces protubérances sont formées, en grande partie, par des cellules géantes.

Vers le vingtième jour qui suit le prélèvement, on voit apparaître de petits points verts, en des endroits quelconques de la surface du tissu néoformé. Chacun d'eux est un bourgeon, qui va se développer rapidement pour donner une longue tige feuillée (fig. 56); il ne se forme jamais de racines.

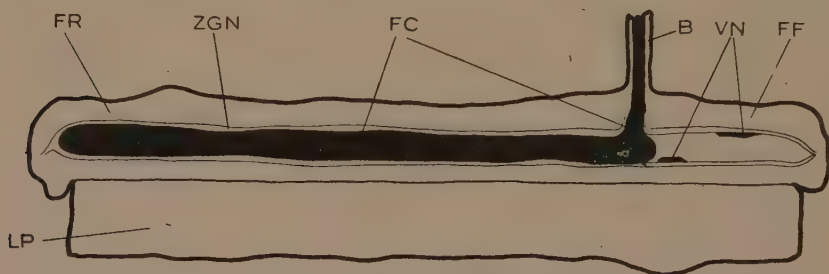


Fig. 58. — Coupe longitudinale schématisée pratiquée dans un fragment de tissu cambial d'Orme ayant produit un bourgeon.

On distingue le tissu libérien (LP), qui supporte le cal formé par la prolifération du tissu cambial. La coupe intéresse une des stèles édifiées spontanément dans le cal, au niveau de laquelle s'est développé un bourgeon (B). Entre le point d'insertion de la pousse feuillée et l'extrémité foliaire (FF) de l'explantat, la zone génératrice néoformée n'a produit que de rares vaisseaux (VN), qui sont apparus spontanément. Par contre, entre le point d'insertion et la face radicale (FR), toute la région centrale de la stèle est constituée par des éléments lignifiés (FC), en continuité avec ceux que l'on observe à la base de la tige feuillée. Ce résultat semble montrer que le bourgeon exercerait une action différenciatrice polarisée dans le sens feuille-racine, action qui se superposerait aux phénomènes de différenciation spontanée.

Si l'on examine maintenant des coupes transversales pratiquées dans des fragments de tissus ayant été cultivés pendant des temps variables, il est aisé de suivre l'évolution de ces processus de néoformation.

On constate qu'il apparaît, à partir du cambium, un parenchyme d'abord homogène, formé de cellules assez grandes, recouvrant complètement le tissu préexistant. Il se différencie ensuite, au sein de ce parenchyme homogène, toute une série de zones génératrices surnuméraires cyclisées, approximativement parallèles entre elles, et qui s'étendent d'un bout à l'autre de l'explantat. Ces cylindres méristématiques ne tardent pas à fonctionner pour former des cellules libériennes et des vaisseaux, mais on remarque qu'elles ne prolifèrent pas avec la même intensité sur toute leur longueur, ce qui indique que le phénomène est légèrement polarisé. En

effet, dans la région foliaire des explantats, ces zones génératrices surnuméraires ne différencient qu'un petit nombre de vaisseaux de faible diamètre, tandis qu'au niveau de la région radicale, presque tout le centre des formations cyclisées est occupé par des vaisseaux de grande taille (fig. 57 A et B.).

C'est, en général, au moment où les tissus sont parvenus à ce stade d'évolution, que des bourgeons s'édifient à la surface du tissu néoformé, ou à partir des zones génératrices surnuméraires.

C. — Etude de l'action exercée par les bourgeons néoformés

L'examen de coupes histologiques, pratiquées dans des explantats de plus en plus évolués, permet de constater qu'il ne tarde pas à apparaître des cellules libériennes et des vaisseaux à la base des bourgeons. La différenciation gagne très rapidement la zone génératrice surnuméraire la plus proche du point d'insertion du bourgeon et se poursuit ensuite au niveau de celle-ci.

S'il s'agit d'une ébauche formée dans la région radicale de l'explantat, il est très difficile de déterminer exactement la part qui revient au bourgeon dans la vascularisation du cambium surnuméraire auquel il se raccorde, car celui-ci produit spontanément des vaisseaux. Au contraire, si le bourgeon est apparu dans la région foliaire où, normalement les stèles ne contiennent pratiquement pas d'éléments lignifiés, le cambium auquel il se raccorde donne alors naissance à un grand nombre de vaisseaux; ceci permet de séparer les phénomènes de différenciation normaux des phénomènes de différenciation induits. Signalons, enfin, que les processus d'histogénèse ne sont jamais orientés dans le sens racine-feuille, c'est-à-dire que l'on n'observe pas une formation de vaisseaux entre le point d'insertion du bourgeon et le pôle foliaire de la culture (fig. 58).

Ainsi, même dans ce matériel dont la polarité de développement est pratiquement nulle, et la polarité anatomique faible, les bourgeons déterminent des remaniements tissulaires, dont l'orientation est identique à celle que nous avons signalée pour des tissus à polarité très accusée, c'est-à-dire qu'ils se manifestent toujours dans le sens feuille-racine.

CHAPITRE II

ETUDE DE L'INFLUENCE HISTOGENE EXERCEE PAR DES BOURGEONS GREFFES SUR DES FRAGMENTS DE TISSUS CULTIVES *IN VITRO*

Au cours du chapitre précédent, nous avons montré que les tissus situés sous un bourgeon néoformé subissent des modifications complexes, caractérisées par une dédifférenciation progressive suivie d'une redifférenciation de formations conductrices. Dans le cas de bourgeons formés par le liber d'Endive, ces phénomènes sont particulièrement nets, et les deux phases successives qu'ils comportent peuvent être facilement discernées. Mais, dans les autres cas, par exemple lorsqu'il s'agit d'ébauches développées au niveau de la zone génératrice, ou de bourgeons formés à partir de régions dédifférenciées dès le début de la culture, les processus de dédifférenciation ne peuvent être mis en évidence, et l'on observe seulement une action formatrice d'éléments cribro-vasculaires.

Nous avons supposé que ces remaniements résulteraient d'une action inductrice exercée par les bourgeons. Mais on pouvait interpréter, au contraire, les processus d'histogénèse observés, en imaginant une onde partant du tissu préexistant et aboutissant aux bourgeons. Les bourgeons seraient l'expression précoce de ce phénomène, et les processus de différenciation, l'expression tardive, peut-être par suite d'un retard dans la réaction des tissus. On pouvait aussi penser que nous avions examiné des fragments ayant formé des bourgeons à des profondeurs variables au sein des tissus, et que les remaniements histologiques signalés ne seraient que les traces laissées par les bourgeons au cours de leur croissance vers le cal.

Pour échapper à ces objections, il nous a semblé nécessaire de reprendre nos recherches avec une technique nouvelle, consistant à faire agir par greffage des tiges feuillées déjà bien développées sur des explantats fraîchement prélevés. Cette méthode présentait, en outre, l'intérêt de nous fournir un moyen de faire agir des bourgeons sur des tissus incapables d'en produire spontanément. Nous avons appliqué cette nouvelle technique à deux espèces très différentes, l'Endive et l'Orme.

Au cours de l'exposé de ces recherches, nous ne nous reporterons à aucune des nombreuses études effectuées sur les divers types de greffe utilisés en horticulture, en raison des différences profondes existant entre les techniques et les matériels.

I. — Influence histogène exercée par des bourgeons greffés sur des fragments de racine d'Endive.

Nous avons greffé des bourgeons, soit sur l'extrémité foliaire, soit sur l'extrémité radicale de fragments de racines d'Endive. Ces expériences furent effectuées sur des prismes comportant du liber, du parenchyme vasculaire, et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus, ainsi que sur des fragments composés uniquement de parenchyme vasculaire. Nous envisagerons successivement ces deux types d'explantats.

A. — Greffage de bourgeons sur des fragments comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus.

Rappelons que les greffons sont obtenus en prélevant, dans la région foliaire d'un explantat ayant été cultivé *in vitro* pendant 12 à 14 jours, des fragments de tissus, en forme de coin, portant chacun une tige feuillée longue de 3 à 4 cm. ; chaque greffon est placé dans une encoche de forme correspondante, pratiquée perpendiculairement à la zone génératrice des sujets (voir fig. 9, p. 38).

Nous étudierons, tout d'abord, les caractères généraux du développement des sujets et des greffons, puis nous examinerons les résultats fournis par l'examen de coupes histologiques sériees, pratiquées à intervalles réguliers dans des explantats ainsi greffés.

a) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES.

Le comportement des explantats greffés est très différent, selon que les tiges feuillées sont déposées sur leur extrémité foliaire, ou sur leur extrémité radicale. Nous allons envisager brièvement ces deux cas, dont nous avons d'ailleurs parlé en exposant les résultats physiologiques de nos expériences.

1°) Bourgeons greffés sur l'extrémité foliaire des explantats.

Au moment de la mise en place du greffon, les formations conductrices qu'il renferme, et qui ont été sectionnées lors de son prélèvement, coïncident généralement avec la zone génératrice du sujet. Plus rarement, elles sont en contact avec le parenchyme libérien de l'explantat. Dans les deux cas, la soudure s'effectue convenablement, et, comme nous l'avons dit (voir p. 40), 60 à 70 % des greffes sont réussies. Par contre, lorsque la section des éléments conducteurs du greffon est en contact avec le parenchyme vasculaire du sujet, la soudure s'opère très mal et le greffon ne tarde pas à

mourir. Nous n'envisagerons que les essais dans lesquels les greffes réussissent.

Dans ce cas, les bourgeons greffés ne présentent qu'une faible croissance pendant les six premiers jours. A ce moment, les cellules du cal formées par la prolifération normale des tissus du sujet sont soudées à celles du greffon, ce qui assure vraisemblablement un approvisionnement meilleur en matières nutritives, et l'on voit alors la croissance s'accélérer. Vers le dixième jour après le greffage, des ébauches néoformées apparaissent sur le sujet au voisinage du greffon et se développent rapidement (voir fig. 20, p. 61).

2°) *Bourgeons greffés sur l'extrémité radicale des explantats.*

Lorsque les greffons sont placés sur la région radicale des explantats, on obtient des résultats différents : en effet, la qualité de la soudure qui se réalise *in vitro*, entre le bourgeon et son support, est indépendante de la position des éléments conducteurs du greffon par rapport aux différents tissus constituant le sujet. Ceci n'a rien de surprenant, puisque l'on sait que, sur cette extrémité des explantats, tous les tissus, sauf toutefois les régions les plus internes du parenchyme vasculaire, prolifèrent pour donner un cal à croissance exubérante. Aussi, quelle que soit la position du greffon, celui-ci est-il rapidement inclus, enserré par les tissus néoformés, et le greffage réussit au moins dans 90 % des cas.

Pendant les six premiers jours, le comportement des greffons déposés sur l'extrémité radicale est identique à celui des pousses feuillées placées sur la face foliaire des explantats, c'est-à-dire que leur développement est lent ; par la suite, la croissance s'accélère légèrement, mais demeure nettement inférieure à celle des greffons déposés sur l'extrémité foliaire. Signalons, enfin, que le greffage ne modifie pas le volume du cal qui apparaît normalement dans cette région, mais provoque, par contre, une inhibition locale de la formation et du développement de bourgeons par le sujet (voir fig. 21, p. 62).

b) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS GREFFÉS DANS LA RÉGION FOLIAIRE DES EXPLANTATS.

Nous allons envisager, tout d'abord, l'action exercée par des bourgeons greffés au niveau du cambium, puis nous étudierons les modifications induites par des bourgeons greffés sur le parenchyme libérien.

1°) *Bourgeons greffés au niveau de la zone génératrice.*

Examinons des coupes pratiquées, 4, 5 et 6 jours après l'ensemencement, dans des fragments de racines portant des greffons dont les éléments conducteurs sectionnés sont en contact avec la zone génératrice du

sujet. La région de suture est bien distincte, car elle renferme des mucilages et quelques cellules nécrosées. On remarque qu'il apparaît, dans le cal assurant la soudure, des éléments cribro-vasculaires en continuité avec ceux du greffon. Un examen attentif des coupes permet de constater que l'influence organisatrice du greffon s'exerce, de préférence, aux endroits où les tissus sont bien soudés. On distingue, en effet, une ou deux régions de passage séparées par des endroits où la soudure est peu intime, et au niveau desquels l'action ne s'est pas transmise. Les néoformations induites par le

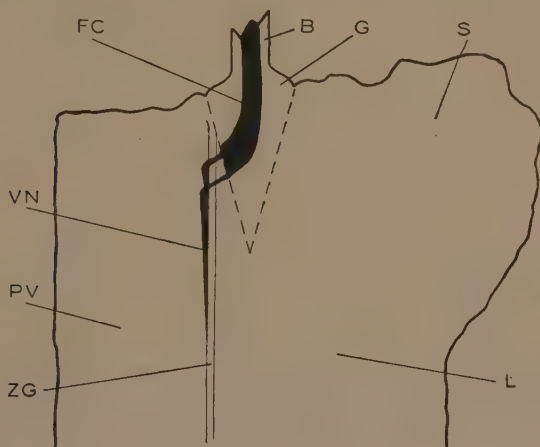


Fig. 59. — Schéma indiquant l'orientation des modifications induites par un bourgeon greffé au voisinage de la zone génératrice d'un fragment de racine d'Endive.

On constate que les formations cribro-vasculaires (FC) induites par le bourgeon (B) greffé traversent en 2 points la ligne de suture de la greffe (indiquée en pointillé). L'action histogène se poursuit au niveau de la zone génératrice (ZG) du sujet (S), qui donne alors naissance à des éléments conducteurs dans ses régions situées en-dessous du raccord. Le nombre des éléments induits diminue à mesure que l'on s'éloigne de l'extrémité foliaire de l'explantat. Ce phénomène est particulièrement net pour les vaisseaux néoformés (VN).

G : Greffon, PV : Parenchyme vasculaire, L : Liber.

greffon progressent ensuite dans le sujet, atteignent sa zone génératrice, et provoquent, alors, une prolifération localisée de cette dernière. L'examen de sections transversales, de plus en plus éloignées du niveau où les éléments conducteurs induits par le bourgeon traversent la soudure du greffon avec le sujet, révèlent que cette action sur la zone génératrice s'exerce uniquement dans le sens feuille-racine, et qu'elle décroît à mesure que l'on s'éloigne du raccord (fig. 59).

Si l'on observe ensuite des coupes pratiquées 10, 15 ou 20 jours après le greffage, on constate que le nombre des éléments conducteurs induits dans le cal, à travers la ligne de suture, augmente considérablement à mesure

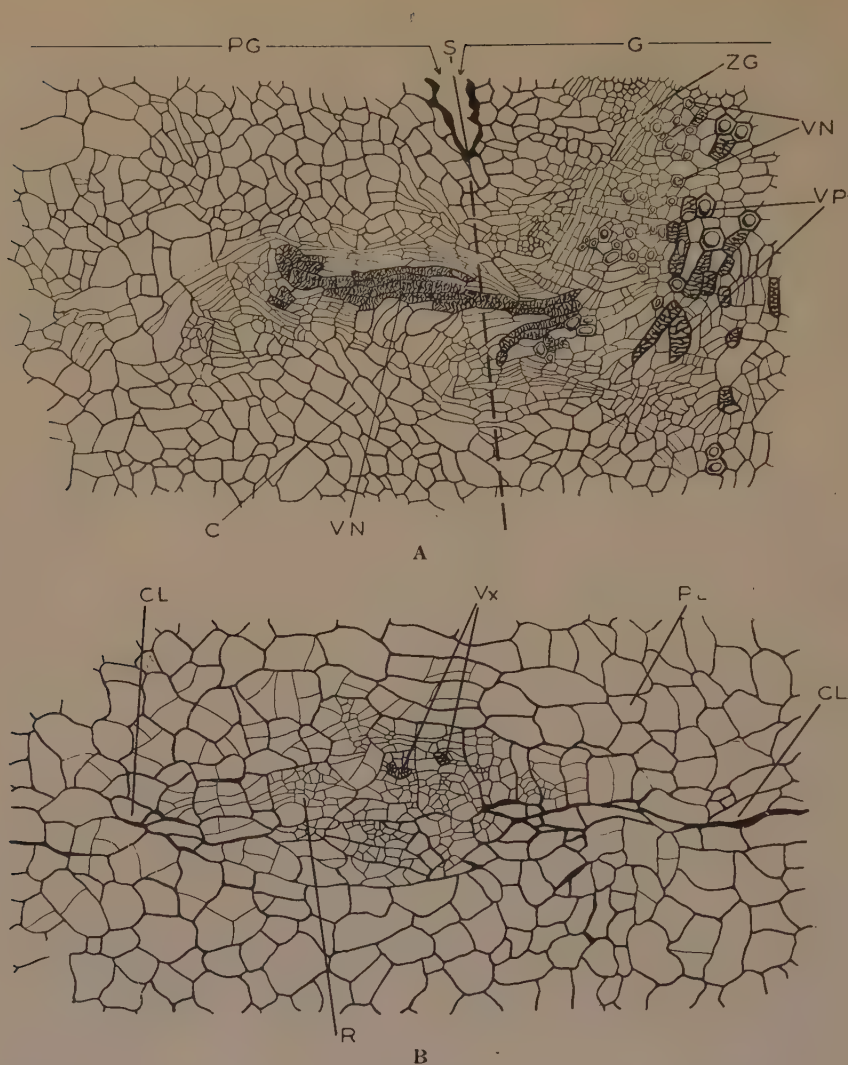


Fig. 60. — Modifications anatomiques induites par un bourgeon greffé sur le liber d'un fragment de racine d'Endive.

A. — On constate qu'il s'est différencié des éléments conducteurs à travers les cellules de cal (C) assurant la soudure (S). Le pointillé indique la limite du greffon (G) et du sujet (PG). On distingue dans le greffon des vaisseaux préexistants (VP), la zone génératrice (ZG) qui a produit des vaisseaux de petit calibre (VN) sous l'influence du bourgeon. La structure du cal est profondément modifiée par la différenciation d'éléments conducteurs en continuité avec ceux induits par le bourgeon à l'intérieur du greffon.

B. — Modifications produites dans un cordon-libérien (CL) du sujet sous l'action du bourgeon greffé ; cette figure représente un niveau situé à 1600 μ en-dessous de A. On peut observer ici l'avant-dernier stade des modifications anatomiques induites par le greffon. Les éléments conducteurs représentés sur la figure A se sont orientés vers la file de cellules libériennes la plus proche et l'on voit, au sein d'une plage dédifférenciée (R), un début d'organisation caractérisé par la différenciation de vaisseaux (Vx). Comparer avec la fig. 31 C, p. 80.

que le bourgeon greffé s'accroît ; parallèlement, la zone génératrice prolifère sur une plus grande largeur, en produisant d'abondantes formations cribro-vasculaires.

Examinons parallèlement des témoins, consistant en explantats non greffés, et en fragments portant des greffons dont la tige feuillée a été sectionnée lors de l'ensemencement. On constate, dans les deux cas, qu'il ne se produit de modification anatomique, ni au niveau de la soudure du sujet avec les fragments de tissus dépourvus de bourgeons, ni sur les témoins non greffés.

2°) Bourgeons greffés au niveau du liber.

Lorsque les éléments conducteurs du greffon sont en contact avec le parenchyme libérien du sujet, on voit se produire, dès les premiers jours après le greffage, des modifications anatomiques progressives dans le cal assurant la soudure, en face des formations conductrices du bourgeon greffé. Ces modifications sont caractérisées par une différenciation suivie d'une redifférenciation de formations cribro-vasculaires (fig. 60 A). Comme dans le cas précédent, ces phénomènes ne se manifestent qu'en des régions privilégiées, où la soudure est particulièrement satisfaisante. Après avoir traversé la soudure, ces remaniements tissulaires se poursuivent en profondeur dans le parenchyme libérien du sujet, et s'orientent vers la file de cellules libériennes la plus proche, puis continuent leur progression dans celle-ci en se dirigeant obliquement vers la zone génératrice du portegreffe. Comme dans le cas de bourgeons apparus spontanément, on observe alors dans le cordon libérien au sein duquel se manifeste l'action inductrice du greffon, une plage dédifférenciée dans laquelle se sont différenciés des éléments cribro-vasculaires (fig. 60 B).

Si l'on examine ensuite des coupes pratiquées dans des cultures plus âgées, on constate que les formations cribro-vasculaires, induites dans le liber au travers de la greffe, atteignent finalement le cambium du sujet ; celui-ci commence alors à proliférer, mais seulement en-dessous de l'endroit du raccord (fig. 61).

Si l'on pratique enfin des coupes dans des sujets 15 à 20 jours après le greffage, on remarque que les néoformations induites dans le liber s'organisent : à mesure que la tige feuillée s'accroît, de nouveaux éléments conducteurs se forment à côté des précédents, au sein de la plage dédifférenciée qui s'étend progressivement, et, finalement, ces formations cribro-vasculaires présentent une disposition superposée secondaire. C'est ainsi que l'on peut observer au sein d'un cordon libérien ayant subi l'influence organisatrice d'un greffon, un anneau régulier de liber, produit par une zone génératrice cyclisée, qui a donné naissance à de nombreux vaisseaux sur sa face interne. Cette structure obtenue sous l'influence d'un bourgeon greffé est absolument identique à celle qui se réalise en-dessous de bour-

geons édifîés spontanément (voir les remaniements induits par le bourgeon B₃ sur les schémas G et H, fig. 33, p. 84).

*
**

Toutes ces observations anatomiques confirment pleinement les résultats obtenus précédemment, et démontrent d'une manière irréfutable que les modifications tissulaires apparaissant sous les bourgeons résultent bien

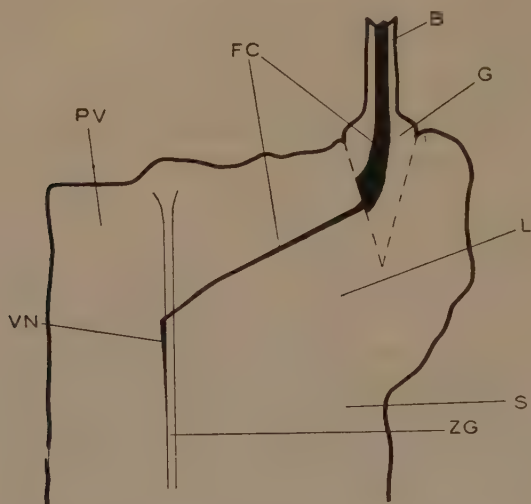


Fig. 61. — Schéma indiquant l'orientation des modifications induites par un bourgeon greffé sur la région libérienne d'un fragment de racine d'Endive.

On constate que les formations cribro-vasculaires (FC) induites par le greffon (G) traversent la ligne de suture de la greffe et s'orientent obliquement, à travers le liber (L) vers la zone génératrice (ZG) du sujet (S). Celle-ci prolifère alors en-dessous du point de raccord (VN).

PV : Parenchyme vasculaire, B : Bourgeon greffé.

d'une action positive de ceux-ci. De plus, elles nous permettent de reconstituer à présent, de façon certaine, l'évolution dans le temps des remaniements induits : ceux-ci débutent par une dédifférenciation progressive des tissus, bientôt suivie d'une redifférenciation d'éléments conducteurs.

c) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS GREFFÉS DANS LA RÉGION RADICALE DES EXPLANTATS.

Les greffons se soudent très bien sur la région radicale des sujets; bien souvent, il est difficile de délimiter exactement la ligne de suture de la greffe sur des coupes anatomiques.

D'une manière analogue à ce que nous avons signalé pour les greffons déposés sur la face foliaire, les bourgeons greffés induisent, dans ce cas encore, une différenciation progressive d'éléments cribro-vasculaires à travers le tissu du cal assurant la soudure; mais, contrairement à ce qui se produit pour l'extrémité opposée, ces remaniements ne s'orientent pas dans le sens feuille-racine, et se raccordent horizontalement à la plage libéro-ligneuse, à contour complexe, apparue spontanément dans le cal. A partir du point de raccord, il n'est plus possible de caractériser les modifications anatomiques induites parmi les nombreuses lignifications que l'on observe normalement; on ne peut pas davantage mettre en évidence une différence quantitative entre le volume des formations cribro-vasculaires produites par l'extrémité radicale des explantats greffés, par rapport à celui des éléments correspondants édifiés, au même moment, sur des témoins ne portant pas de bourgeons.

B. — Greffage de bourgeons sur des fragments de parenchyme vasculaire isolé

Nous avons répété les observations précédentes en opérant des greffages de bourgeons sur des fragments isolés de parenchyme vasculaire, longs de 2,5 cm., rigoureusement dépourvus de liber et de tissu cambial. Dans cette étude, nous avons surtout considéré les réactions de l'extrémité foliaire des sujets et, plus particulièrement, des régions de celle-ci qui correspondaient au centre de l'organe, c'est-à-dire aux tissus âgés, incapables de proliférer spontanément.

Nous examinerons successivement le développement des explantats au cours de la culture, puis nous décrirons les divers types de réactions histologiques que nous aurons observés.

a) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES.

La soudure des greffons sur les sujets se révèle plus ou moins aisée, selon leur position sur l'explantat. Nous allons envisager, tout d'abord, le cas de bourgeons greffés sur l'extrémité foliaire, puis sur l'extrémité radicale.

1°) *Bourgeons greffés sur l'extrémité foliaire des explantats.*

Les tiges feuillées greffées dans cette région présentent une croissance peu active, car la soudure ne s'effectue que lentement, surtout si le greffon est déposé sur la partie âgée de l'explantat. Dans les cas les plus favorables, les greffons sont intimement soudés au sujet huit jours après le greffage. La proportion de greffes réussies ne dépasse pas 50 %.

2°) Bourgeons greffés sur l'extrémité radicale des explantats.

Le greffage s'effectue beaucoup plus facilement sur cette extrémité des sujets que sur la face foliaire, car elle prolifère plus régulièrement, et plus intensément. Dans 70 % des cas, une soudure convenable du greffon et du porte-greffe se produit dès le sixième jour, et par la suite, le cal formé par le sujet enserre rapidement la base du greffon.

b) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS GREFFÉS SUR LA RÉGION FOLIAIRE DES EXPLANTATS.

Lorsqu'on examine des coupes pratiquées dans les explantats portant des greffons sur leur extrémité foliaire, on remarque que les phénomènes d'induction sont bien différents, suivant que les formations conductrices du bourgeon transplanté sont au contact des régions jeunes du parenchyme vasculaire, ou des parties âgées. Nous allons examiner ces deux cas :

1°) Bourgeons greffés au niveau du parenchyme vasculaire jeune.

Lorsqu'un greffon est déposé sur les régions jeunes de l'explantat, on observe les phénomènes suivants :

Dès les premiers jours de la culture, les régions périphériques du sujet subissent des remaniements analogues à ceux qui se produisent sur des prismes non greffés, c'est-à-dire que les cellules environnant les vaisseaux prolifèrent activement, pour donner naissance à des zones génératrices cyclisées ou en fer à cheval. Dès que le greffon est soudé au sujet, il apparaît, dans le cal assurant la soudure, des formations cribro-vasculaires en continuité avec celles du greffon. Ces formations conductrices progressent dans le sujet en s'orientant vers le cambium néoformé le plus proche et, dès que celui-ci est atteint, il se met à proliférer. Il donne alors naissance à des éléments conducteurs, mais seulement dans ses régions situées en-dessous du raccord. Si l'on examine ensuite des coupes de plus en plus éloignées du raccord, on constate que les processus de différenciation diminuent progressivement.

Alors que, dans le cas du bourgeonnement spontané, il était malaisé de discerner la part qui revenait à une ébauche déterminée parmi tous les éléments conducteurs induits dans chaque zone cambiale par les nombreux bourgeons apparaissant à des niveaux différents, on peut, dans le cas présent, suivre avec précision la propagation de l'action inductrice exercée par le greffon, car aucune action étrangère ne vient se superposer à la sienne.

2°) Bourgeons greffés au niveau du parenchyme vasculaire âgé.

Lorsqu'un greffon est placé sur du parenchyme vasculaire âgé, c'est-à-dire correspondant à la région centrale de la racine, la soudure se réalise mal. L'examen de coupes anatomiques permet de constater que celle-ci, très fragile, ne s'effectue que sur une faible longueur, et uniquement dans la région privilégiée où affleurent les éléments cribro-vasculaires induits

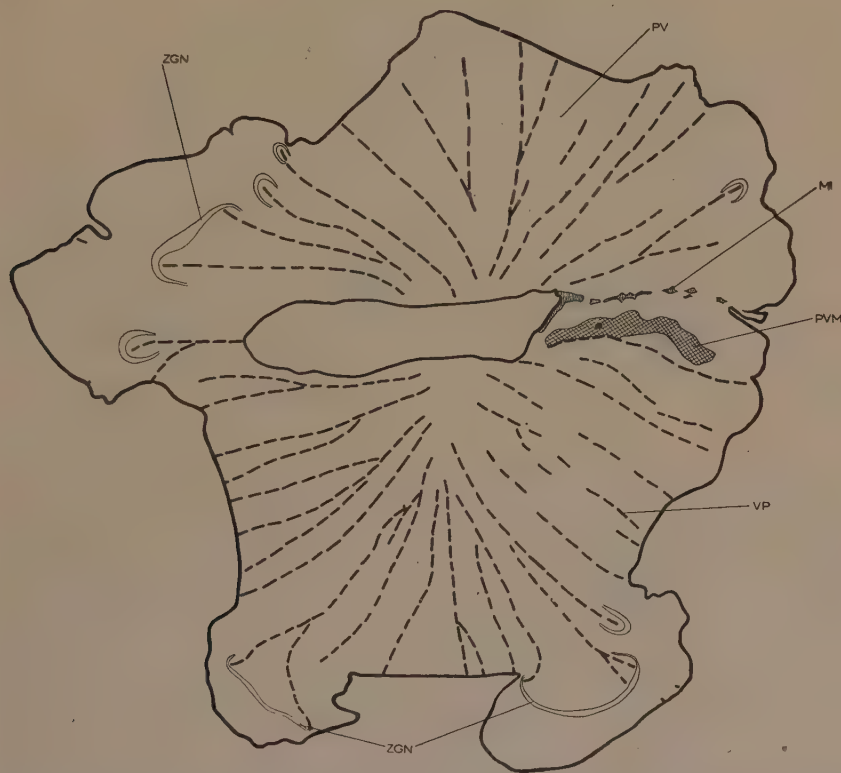


Fig. 62. — Section transversale pratiquée dans la région foliaire d'un fragment de parenchyme vasculaire ayant subi l'influence histogène d'un bourgeon greffé dans ses régions âgées.

La figure représente une section pratiquée dans le sujet juste en-dessous de la base du greffon. On remarque que les régions jeunes du parenchyme vasculaire (PV) ont donné naissance à des rudiments de zones génératrices (ZGN), tandis que les régions plus âgées n'ont manifesté aucune prolifération. On distingue, au centre du schéma, les deux lèvres de l'encoche qui maintenait le greffon. Cette cavité s'est comblée dans ses régions situées en-dessous du greffon, et n'est plus indiquée, à ce niveau, que par une ligne de mucilages (M). Le bourgeon a induit la prolifération de l'explantat et déterminé, en même temps, des remaniements tissulaires dont la localisation est indiquée par la région quadrillée (PVM).

VP : Vaisseaux préexistants.

par le bourgeon dans les tissus qui le supportent. On remarque qu'à ce niveau les cellules du sujet se différencient, et donnent un tissu méristématique qui se soude au greffon.

Ce stade de dédifférenciation est bientôt suivi par une redifférenciation



Fig. 63. — Détail des modifications histologiques induites par un bourgeon greffe sur les régions âgées d'un fragment de parenchyme vasculaire d'Endive.

Ce dessin correspond à la partie gauche de la région quadrillée de la fig. 62. On peut observer, dans une plage dédifférenciée (PVD), les éléments cribro-vasculaires (VN, L) induits par le bourgeon greffé. La partie supérieure de la figure, au-dessous de la ligne de mucilages (M), n'a pas subi l'influence histogène du greffon et ne présente aucun remaniement (PVN).

VP : Vaisseaux préexistants.

d'éléments conducteurs, disposés sans ordre, et se raccordant avec ceux du greffon. La différenciation de ces formations conductrices se poursuit de proche en proche au sein des tissus du sujet, en s'orientant dans le sens feuille-racine, c'est-à-dire parallèlement au grand axe du porte-greffe. Examinons la figure 62, qui montre une section transversale pratiquée, juste

en-dessous de la base du greffon, dans un explantat fixé huit jours après l'ensemencement. On constate qu'il est apparu dans le sujet des remaniements tissulaires, dont la localisation est indiquée par la région quadrillée. L'examen détaillé de cette région quadrillée (fig. 63) montre la limite de la section pratiquée sur le sujet lors de la mise en place du greffon. Cette section est indiquée par une ligne de mucilages. Les régions du parenchyme vasculaire situées au-dessus de cette ligne, sur la figure, ne présentent aucun remaniement. Par contre, les régions situées en-dessous de celle-ci, et qui se trouvaient à la verticale des formations conductrices du greffon, sont profondément modifiées. Il n'apparaît pas ici de zone génératrice individualisée, comme c'est le cas pour les régions jeunes du parenchyme vasculaire, mais une plage dédifférenciée au sein de laquelle on remarque des îlots cribro-vasculaires disposés d'une manière anarchique.

L'expérience que nous venons de décrire présente, à notre avis, un intérêt particulier, car elle nous a permis d'obtenir, sous l'action de bourgeons, des remaniements dans un tissu incapable de se modifier spontanément. Elle met donc en évidence, avec une netteté remarquable, la puissance de l'action dédifférenciatrice exercée par les bourgeons. Elle établit, en outre, que des cellules paraissant avoir perdu toute faculté évolutive ont gardé, cependant, des potentialités multiples.

C) ETUDE DE L'ACTION EXERCÉE PAR LES BOURGEONS GREFFÉS SUR LA RÉGION RADICALE DES EXPLANTATS.

A première vue, il nous paraissait facile d'étudier l'action d'un bourgeon greffé sur la région radicale d'un fragment de parenchyme vasculaire, car la soudure se réalisait très rapidement. Elle était, en général, complètement terminée le sixième jour après la mise en culture. Mais à ce moment, le cal produit spontanément par la face radicale du sujet contenait déjà une plage méristématique secondaire, en plein développement, ayant donné naissance à de nombreuses formations cribro-vasculaires; les lignifications induites par le bourgeon à travers la région de suture se perdaient dans ces formations cribro-vasculaires spontanées, si bien que nous n'avons pu déceler les manifestations possibles de l'action histogène du greffon sur les tissus du sujet.

II. — Influence histogène exercée par des bourgeons greffés sur des fragments de tissu cambial d'Orme

Bien que la mise en place des greffons soit plus facile à réaliser pour l'Orme que pour l'Endive, leur évolution au cours de la culture ne permet pas d'obtenir des remaniements histologiques dans le porte-greffe. En effet, si la lame de tissu qui supporte le bourgeon est constituée par du

tissu néoformé, elle est nécessairement très mince, et se dessèche rapidement. Si l'on utilise, par contre, une lame plus épaisse, la soudure s'effectue de manière convenable, mais l'action inductrice du bourgeon se perd dans les quelques assises de cellules libériennes du greffon et ne s'exerce pas sur le sujet. L'étude des greffes pratiquées sur le tissu cambial d'Orme s'est donc révélée décevante.

CHAPITRE III

RECHERCHES DIVERSES SUR LE MECANISME DE L'ACTION HISTOGENE DES BOURGEONS

Les observations, dont nous avons parlé jusqu'ici, ont établi que les bourgeons exercent sur les tissus sous-jacents une action histogène polarisée, se traduisant par une dédifférenciation progressive, suivie d'une redifférenciation de formations conductrices. Ce phénomène d'induction fut décelé, tout d'abord, en étudiant les modalités de l'action exercée par des bourgeons apparus spontanément sur des fragments d'organe. Sa démonstration rigoureuse fut obtenue au moyen de greffes.

Il nous faut rechercher maintenant quelle partie de la pousse feuillée est responsable de cette influence histogène. Celle-ci est-elle due à l'activité assimilatrice des limbes, ou est-elle la conséquence de l'activité des régions méristématiques? Nous envisagerons, tout d'abord, ces deux points, puis, dans un autre paragraphe, nous étudierons le mécanisme de l'action organisatrice et nous démontrerons qu'elle s'exerce par voie humorale.

I. — Rôle des limbes et des méristèmes dans les processus d'histogénèse

A. — Influence de l'activité assimilatrice des limbes

Nous avons vu que les premières théories (TH. HARTIG, H. DE VRIES, etc...), qui cherchaient à expliquer l'action des bourgeons sur la croissance cambiale, supposaient que ce phénomène résultait d'une conduction des produits de la photosynthèse vers les régions basales de la plante; cette hypothèse fut bientôt ruinée par JOST, qui signala que la prolifération cambiale est identique dans des plantules exposées, soit à la lumière, soit à l'obscurité : d'autre part, WENT et GAUTHERET, établirent que le transport des substances plastiques n'est pas polarisé. Ce dernier résultat confirme les observations de JOST, et permet de penser que les matières nutritives élaborées par les feuilles ne jouent aucun rôle dans les processus d'histogénèse, puisque ceux-ci progressent exclusivement dans le sens feuille-racine. Néanmoins, nous avons pensé qu'il serait intéressant de confirmer cette opinion au moyen d'expériences personnelles. Pour cela, nous

avons repris l'étude de l'induction exercée par des bourgeons néoformés sur des tissus d'Endive, en comparant les phénomènes obtenus à la lumière et à l'obscurité.

La formation des bourgeons a été identique dans les deux cas; toutefois, les cultures maintenues à l'obscurité donnaient naissance à de longues tiges étiolées, tandis que celles placées à la lumière produisaient des feuilles vertes s'accroissant plus lentement.

L'examen de coupes anatomiques n'a révélé aucune différence dans l'intensité de l'action exercée par les tiges feuillées sur les tissus sous-jacents. Pour des bourgeons de même taille, la zone génératrice donne naissance à des nombres comparables de vaisseaux, qu'il s'agisse de pousses étiolées ou non. Par conséquent, les produits de la photosynthèse ne jouent aucun rôle dans les processus d'histogénèse.

B. — Influence des méristèmes

Après avoir mis en évidence le fait que les feuilles n'exercent aucune action histogène due à leur activité assimilatrice, nous avons tenté de préciser le rôle joué par les régions méristématiques.

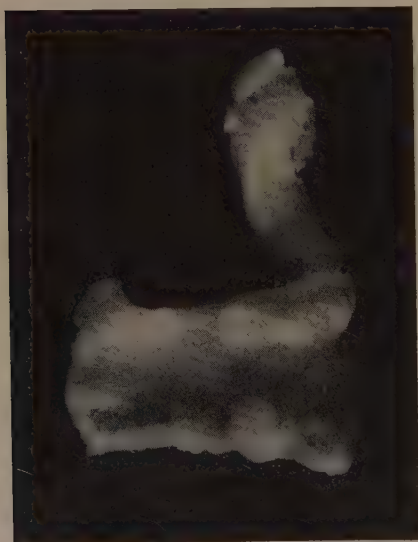


Fig. 64. — Organe aberrant apparu dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

Ces régions superficielles de l'explantat ayant donné naissance à cet organe aberrant avaient été éliminées après 8 jours de culture, puis le fragment mutilé avait été transporté dans un nouveau milieu nutritif. Il est vraisemblable que nous avons lésé un méristème de bourgeon en voie d'édification au moment de la mutilation.

Nous devons d'avoir réalisé cette étude à une circonstance fortuite : dans une de nos expériences, nous éliminions les régions superficielles des cals formés par des fragments de racine d'Endive, juste avant qu'ils n'aient produit des bourgeons. Dans la région foliaire d'un des explantats ainsi mutilé, nous avons vu apparaître une sorte de tronc cylindrique manifes-

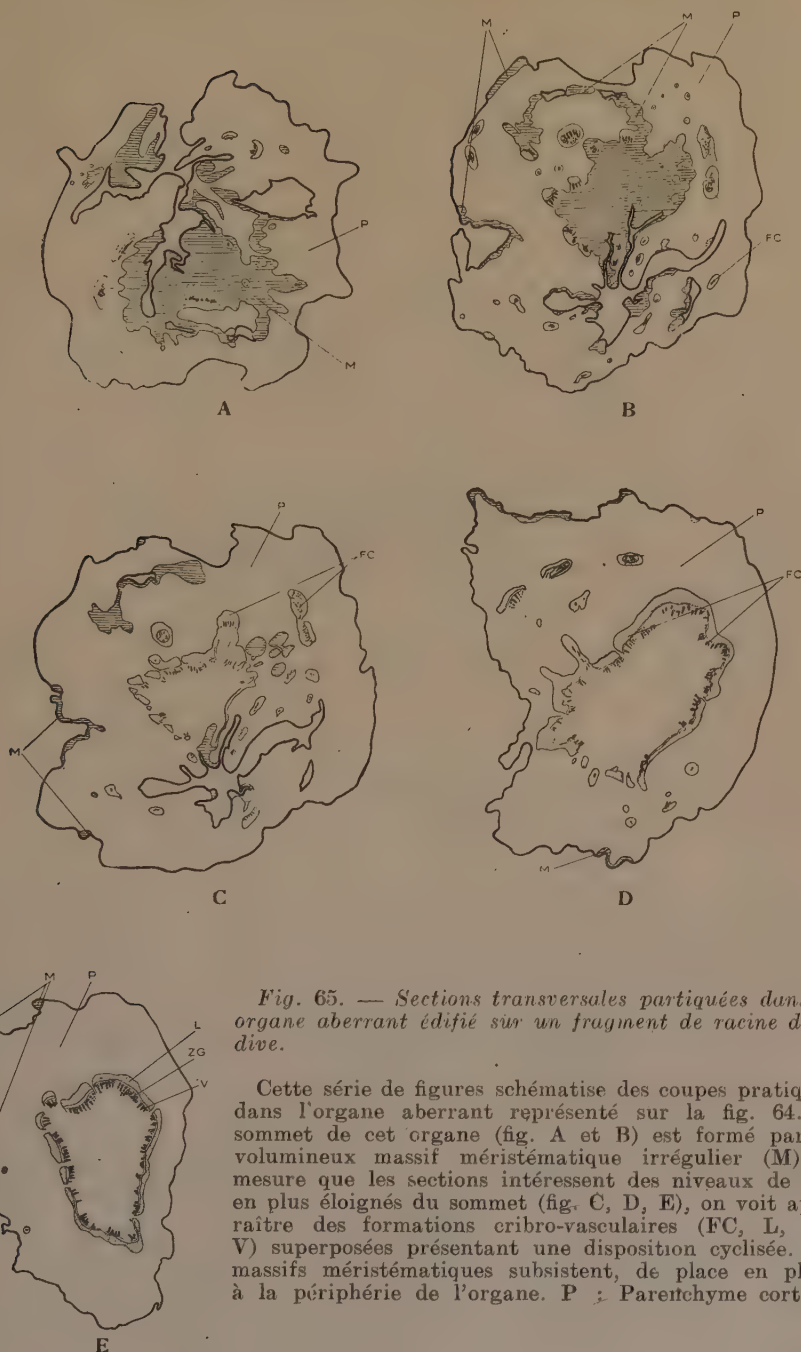


Fig. 65. — Sections transversales partiquées dans un organe aberrant édifié sur un fragment de racine d'*Euphorbia*.

Cette série de figures schématise des coupes pratiquées dans l'organe aberrant représenté sur la fig. 64. Le sommet de cet organe (fig. A et B) est formé par un volumineux massif méristématique irrégulier (M). A mesure que les sections intéressent des niveaux de plus en plus éloignés du sommet (fig. C, D, E), on voit apparaître des formations cribro-vasculaires (FC, L, ZG, V) superposées présentant une disposition cyclisée. Des massifs méristématiques subsistent, de place en place, à la périphérie de l'organe. P : Parenchyme cortical.

tant un géotropisme négatif (fig. 64). La croissance de cet organe fut extrêmement faible : il s'accrut en effet de 2,5 cm. en 26 jours, alors qu'une tige feuillée normale aurait atteint, en ce même temps, une longueur de 15 à 20 cm. Son édification paraissait due à l'activité anarchique d'un méristème qui aurait été lésé lors de l'élimination du cal.

L'examen histologique de cet organe aberrant a confirmé cette hypothèse, en révélant que son sommet était constitué par un massif méristé-



Fig. 66. — Section transversale pratiquée dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive ayant donné naissance à un organe aberrant.

Coupe pratiquée dans l'explantat ayant produit l'organe aberrant représenté sur la figure 64, juste en-dessous du point d'insertion de cet organe. On constate que la zone génératrice (ZG) a proliféré intensément pour donner naissance à des éléments cribro-vasculaires (VN). L'intensité de la prolifération déterminée par la tige aberrante est identique à celle qu'aurait provoqué une pousse feuillée normale après le même temps de croissance.

PL : Parenchyme libérien, CL : Cordon libérien, VP : Vaisseaux préexistants.

matique volumineux, irrégulier (fig. 65 A et B). En examinant des coupes pratiquées à divers niveaux, nous avons constaté que cet organe présentait la structure générale d'une tige très aberrante, comportant un cylindre central vaguement dessiné et quelques faisceaux cribro-vasculaires dans l'écorce (fig. 65 C, D, E).

L'observation de coupes pratiquées dans le fragment de racine ayant donné naissance à cette sorte de tige, révèle qu'elle avait exercé sur les

tissus sous-jacents une influence histogène considérable, caractérisée par une prolifération intense de la zone génératrice (fig. 66). L'intensité de cette action était identique à celle qu'aurait exercé, dans le même temps, une tige normale possédant des feuilles bien différenciées. Cette observation montre que les phénomènes d'histogénèse ne sont pas provoqués par les feuilles, mais plutôt par les massifs méristématiques.

Pour apporter la preuve irréfutable du rôle exclusif joué par les méristèmes, il aurait fallu que nous recherchions quelle action histogène aurait produit, soit une pousse feuillée dont toutes les feuilles auraient été éliminées après un certain temps de croissance, soit une pousse feuillée dont certaines feuilles seulement auraient été sectionnées; nous n'avons pas tenté d'obtenir cette démonstration, car nous nous serions heurté à des difficultés considérables. En effet, s'il est aisé de mettre en évidence une relation entre la croissance des bourgeons et l'intensité des remaniements apparus sous leur influence, il est difficile d'effectuer une étude quantitative précise de ce phénomène, en raison des différences individuelles de réactivité des explantats. C'est ainsi que, pour deux explantats différents ayant produit des pousses feuillées identiques, le nombre des vaisseaux formés par la zone génératrice, à un même niveau déterminé, peut varier, par exemple, dans le rapport de 1 à 1,3 ou 1,5. Dans ces conditions, il aurait été impossible d'affirmer que les variations de l'intensité des remaniements que nous aurions observés étaient bien dues aux mutilations pratiquées.

II. — Démonstration de la nature humorale de l'action histogène exercée par les bourgeons

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que l'action histogène est susceptible de franchir la limite séparant deux tissus d'organes différents. Ceci prouve que l'influence exercée par les bourgeons peut se manifester à travers une discontinuité protoplasmique, et doit donc être de nature humorale.

Pour démontrer l'exactitude de cette conclusion, nous avons pensé qu'il était nécessaire de rechercher si cette action serait capable de traverser une mince pellicule d'un corps de composition bien connue et de toxicité nulle. SNOW avait essayé d'entreprendre des essais analogues, mais la substance perméable dont il se servait était constituée par de la gélatine. Or, KULESCHA a montré que, sous l'action de certaines diastases protéolytiques, cette substance donne naissance à des quantités importantes de produits de dégradation, très actifs sur le test-avoine, et peut-être apparentés aux auxines. De telles substances pouvaient avoir pris naissance dans les expériences de SNOW sous l'action des diastases contenues dans les tissus, et il est possible que leur activité ait faussé complètement les

résultats de cet auteur. Pour éviter ces objections, nous avons songé à utiliser des films perméables constitués par des substances dépourvues de protéines. Nous avons tout d'abord pensé à nous servir de pellicules de gélose, qui permettent une diffusion rapide des substances de croissance végétales, et doivent être très pauvres en protéines. Mais l'emploi de la gélose posait des problèmes techniques qui limitaient beaucoup les possibilités d'expérimentation, et après avoir essayé ce matériel, nous nous sommes adressé finalement au xanthate de cellulose, vendu dans le commerce sous le nom de cellophane, en feuilles extrêmement minces, très résistantes, et très perméables.

Nous avons donc repris les expériences de greffage que nous avons effectuées précédemment sur des fragments de racine d'Endive en interposant entre le greffon et le sujet, soit une pellicule de gélose, soit un fragment de cellophane. Les greffons ont été déposés exclusivement sur l'extrémité foliaire des explantats, car, ainsi que nous l'avons dit, l'influence histogène ne se transmet au sein des tissus que dans le sens feuille-racine.

Nous envisagerons successivement les résultats que nous ont fourni les deux types de films perméables utilisés.

A. — Transmission de l'action exercée par les bourgeons à travers une pellicule de gélose

Rappelons que les tubes contenant les fragments portant des bourgeons bien développés, isolés du support par une mince pellicule de gélose, n'étaient pas obturés au coton cardé, et qu'ils étaient maintenus à une température de 20° dans une enceinte obscure; le degré hygrométrique de l'atmosphère de cette enceinte était voisin de 100. Une première série de témoins consistait en fragments de racines dont la face foliaire était recouverte par une pellicule de gélose ne portant pas de bourgeon. Une autre série était constituée par des explantats recouverts de gélose, comme précédemment, mais supportant un greffon dont la pousse feuillée avait été sectionnée.

Nous examinerons d'abord les caractères généraux du développement des cultures, puis les résultats fournis par l'examen de coupes anatomiques.

a) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES.

L'interposition de gélose entre le support et le bourgeon n'a pas empêché celui-ci de conserver un état satisfaisant : sa turgescence se maintenait, et il s'accroissait de 1 cm. environ pendant les 4 jours que durait l'expérience.

Nous avons constaté que la région des fragments, sur laquelle était placée la pellicule de gélose isolant le bourgeon, proliférait de façon abon-

dante, surtout au niveau de la zone génératrice. Les régions homologues des deux séries de témoins manifestaient, elles aussi, une certaine croissance, bien inférieure toutefois à celle que l'on observe en présence d'un bourgeon non mutilé.

b) INFLUENCE EXERCÉE PAR LES BOURGEONS A TRAVERS UNE PELLICULE DE GÉLOSE.

Pour apprécier l'influence exercée par un bourgeon à travers un film perméable, nous avons observé des coupes pratiquées dans des explantats

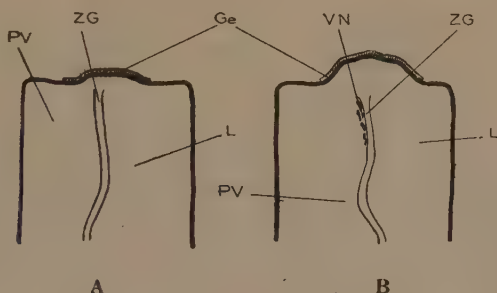


Fig. 67. — Coupes longitudinales schématisées pratiquées, après 4 jours de culture, dans des fragments de racine d'Endive dont la région foliaire portait une pellicule de gélose isolant, ou non, une pousse feuillée en voie de croissance active.

A. — Le schéma représente une coupe effectuée dans un explantat témoin, c'est-à-dire portant une lame de gélose (Ge) sans bourgeon, ou une lame de gélose isolant un bourgeon sectionné. Le cal formé est de faible épaisseur, et la zone génératrice (ZG) n'a pas proliféré.

B. — Coupe pratiquée dans un explantat portant une pousse feuillée en voie de croissance active, isolé par une lame de gélose. Le cal formé sous la gélose est beaucoup plus volumineux que chez le témoin, et la zone génératrice a donné naissance à quelques vaisseaux néoformés (VN).

L : Liber, PV : Parenchyme vasculaire.

portant une pellicule de gélose isolant un bourgeon, et dans des témoins consistant en fragments recouverts d'une pellicule de gélose, sans bourgeon ou portant un bourgeon sectionné.

La comparaison de ces observations (fig. 67 A et B) permet de formuler les conclusions suivantes : dans le cas du témoin, on voit que le cal formé est de faible épaisseur et que la zone génératrice n'a pas donné naissance à des éléments conducteurs. Au contraire, si le fragment est recouvert d'une pellicule de gélose portant un bourgeon, on remarque que le cal est beaucoup plus développé, et que la zone génératrice a produit des vaisseaux.

Ces premiers résultats ont été complétés par l'étude de coupes prati-

quées perpendiculairement à l'axe des fragments. On constate alors, dans le cas où l'explantat portait un bourgeon, que les portions du cal situées en-dessous de la gélose, présentent des recloisonnements plus nombreux que celles qui n'étaient pas recouvertes par la pellicule perméable. Néanmoins, aucun élément conducteur ne se différencie dans le tissu néoformé.

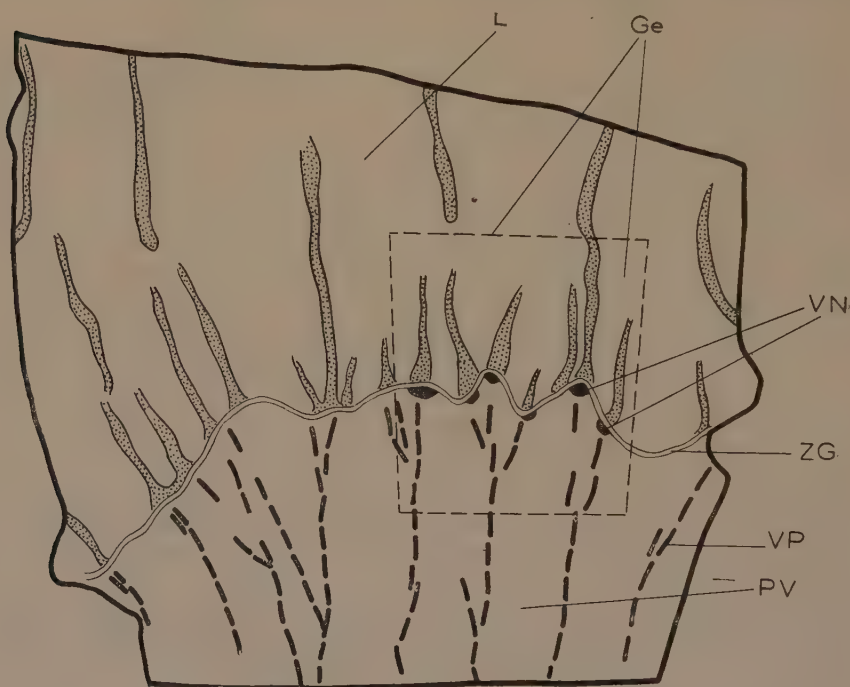


Fig. 68. — Coupe transversale pratiquée dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive ayant subi, pendant 4 jours, l'action d'un bourgeon isolé par une pellicule de gélose.

La section intéresse le tissu préexistant du fragment, à 5 mm. en-dessous de la surface du cal. La position qu'occupait la pellicule de gélose (Ge) sur l'extrémité de l'explantat est indiquée par le quadrilatère en pointillés. On constate que la zone génératrice (ZG), dans ses régions situées en-dessous du film perméable, a donné naissance à des vaisseaux néoformés (VN), tandis que les autres parties du cambium n'ont pas proliféré.

L : Liber; PV : Parenchyme vasculaire; VP : Vaisseaux préexistants.

Chez les témofns, la structure du cal est approximativement la même pour les régions isolées ou non par le film perméable.

Si l'on examine maintenant des sections intéressant le tissu préexistant d'un explantat portant un bourgeon en voie de croissance, on constate que la portion de zone génératrice, située en-dessous de la région sur laquelle était placé le film de gélose isolant le bourgeon, a donné naissance

à des éléments libéro-ligneux, alors que la portion de cambium qui n'a pas subi l'influence du greffon n'a absolument pas proliféré (fig. 68). Cette production de formations cribro-vasculaires décroît à mesure que l'on s'éloigne de l'extrémité foliaire des explantats.

L'examen de coupes pratiquées dans les témoins portant un greffon dont le bourgeon était sectionné et dans les explantats ne portant pas de greffon, montre que la zone génératrice ne prolifère en aucun cas.

Ces résultats prouvent évidemment que l'action histogène exercée par les bourgeons est de nature humorale. Le fait que l'on observe des remaniements tissulaires, non pas strictement localisés au niveau de la section des formations conductrices du greffon, mais en-dessous de toute la pellicule de gélose, s'explique très facilement; on peut admettre simplement que le facteur sécrété par le bourgeon diffuserait latéralement dans le film perméable et passerait ensuite dans les tissus sous-jacents par toute la surface de celui-ci. Cette diffusion latérale diluerait beaucoup la substance active, si bien qu'elle ne pourrait pas provoquer l'apparition de formations conductrices dans le cal, mais seulement au niveau du cambium, dont la sensibilité à l'action des facteurs histogènes est bien supérieure.

Nous n'avons pas considéré, toutefois, que ces résultats étaient parfaitement démonstratifs, puisque nous n'avons observé la formation d'éléments conducteurs qu'au niveau du cambium, qui, comme on le sait, est capable d'en produire spontanément dans certaines conditions. Nous avons pensé qu'il était nécessaire d'étudier ces processus au niveau du liber, qui donne des réactions plus caractéristiques. Cette expérience complémentaire a été réalisée en nous servant de cellophane, et nous allons la décrire à présent.

B. — Transmission de l'action exercée par les bourgeons à travers une pellicule de cellophane.

Nous avons réalisé deux séries d'explantats : les uns étaient munis d'un film de cellophane isolant du sujet un bourgeon bien développé ; les autres, destinés à servir de témoins, étaient aussi munis d'un film de cellophane, mais supportaient des greffons dont la pousse feuillée était sectionnée. Nous examinerons d'abord les caractères généraux du développement des cultures, puis nous exposerons les phénomènes d'histogénèse que nous avons pu observer.

a) CARACTÈRES GÉNÉRAUX DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES.

Les bourgeons isolés de leur support ont présenté une croissance extrêmement réduite. Ce résultat n'est pas surprenant, si l'on considère que l'extrémité radicale des explantats traités était simplement posée, ou très légèrement enfoncée, dans le milieu de culture, de manière que celui-ci

ne puisse s'élever, par capillarité, jusqu'au film perméable. Cette technique permettait d'être certain que les substances excito-formatrices, éventuellement sécrétées par le bourgeon ne diffuseraient pas, de façon partielle ou totale, dans la solution nutritive ; elle présentait, toutefois, un grave inconvénient, car l'approvisionnement en eau du greffon isolé se révélait nettement insuffisant. Cette déficience se traduisait par une crois-

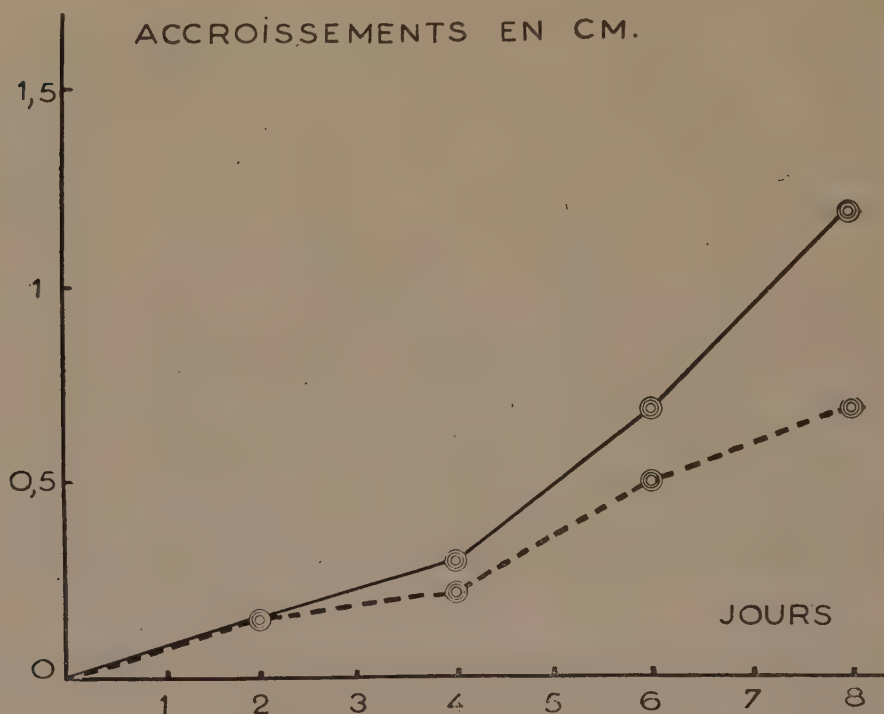


Fig. 69. — Courbes représentant l'accroissement moyen de bourgeons isolés de leur support par une pellicule de cellophane.

La courbe en traits pleins représente l'accroissement de bourgeons ayant reçu quelques gouttes d'eau distillée au quatrième jour après le greffage. Leur développement est beaucoup plus rapide que celui des pousses feuillées n'ayant pas subi ce traitement (courbe en pointillé).

sance très faible des tiges feuillées, accompagnée d'une perte de turgescence.

Pour obvier à cette difficulté, nous avons songé à déposer aseptiquement, au quatrième jour après le greffage, une ou deux gouttes d'eau distillée dans la gouttière formée par la feuille de cellophane pliée. Cette eau était absorbée en quelques heures par les tiges, qui reprenaient immédiatement leur turgescence, et s'accroissaient alors bien mieux que des bourgeons n'ayant pas été humectés (fig. 69).

L'expérience a été arrêtée au septième jour après l'ensemencement, avant qu'aucune ébauche ne se soit différenciée dans le cal qui enserrait étroitement le greffon isolé par la cellophane.

b) INFLUENCE EXERCÉE PAR LES BOURGEONS A TRAVERS UNE PELLICULE DE CELLOPHANE.

L'examen de coupes anatomiques pratiquées dans des explantats portant des bourgeons en voie de croissance active a été souvent décevant, et il nous a fallu étudier un grand nombre de sujets avant d'en rencontrer quelques-uns permettant d'effectuer des observations fructueuses.

Néanmoins, dans certains cas très favorables, nous avons pu observer

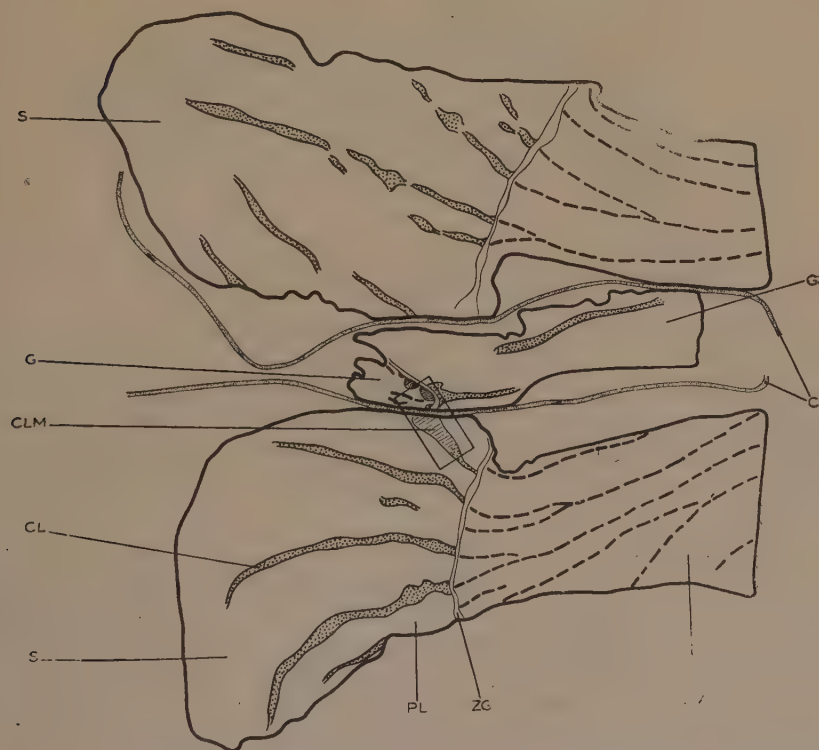


Fig. 70. — Coupe transversale pratiquée dans un fragment de racine d'Endive sur lequel on a fait agir, pendant sept jours, un bourgeon isolé par une pellicule de cellophane.

On constate qu'un des cordons libériens (CL) du sujet (S), se trouvant au voisinage de la zone génératrice (ZG) des tissus situés à la base du bourgeon (G), s'est profondément modifié (CLM). La région hachurée indique l'étendue des remaniements qu'a induit le greffon à travers la cellophane.

PV : Parenchyme vasculaire; PL : Parenchyme libérien.

dans le sujet des modifications histologiques très instructives, dont un exemple est représenté par la figure 70. Celle-ci montre une coupe transversale pratiquée dans un explantat dont le greffon s'était accru d'environ 3 cm. en 7 jours. On distingue facilement les deux bords de l'encoche contenant le greffon, ainsi que les sections du film de cellophane qui l'isolait du sujet. Il est facile de repérer les tissus appartenant au sujet, ainsi que ceux du greffon portant la pousse feuillée; on remarque qu'il est apparu, au niveau de la zone génératrice du greffon, des remaniements tissulaires importants dans le cordon libérien du sujet le plus voisin du point de con-

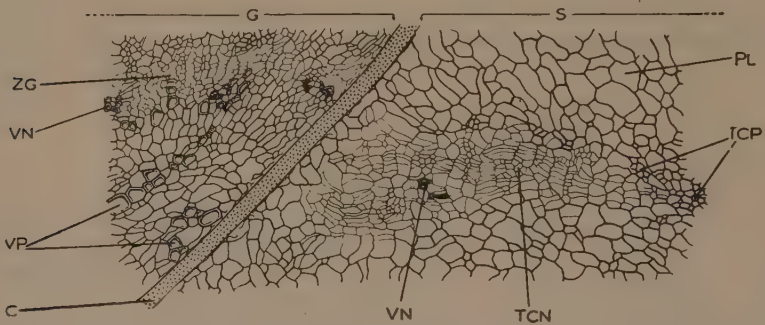


Fig. 71. — Détail des modifications anatomiques induites par un bourgeon à travers une pellicule de cellophane (quadrilatère figure 70).

G : Greffon; S : Sujet; C : Lame de cellophane au travers de laquelle se sont opérés les phénomènes d'induction histogénétique.

On distingue, à gauche, en-dessous de la zone génératrice (ZG) les formations vasculaires (VN) du greffon (G), ainsi qu'une partie du parenchyme vasculaire contenant des vaisseaux de fort calibre (VP). De l'autre côté de la cellophane (C), dans le parenchyme libérien (PL) du sujet (S), contenant des tubes criblés pré-existants (TCP), on remarque une plage dédifférenciée au sein de laquelle sont apparus quelques vaisseaux néoformés (VN) ainsi que quelques tubes criblés (TCN).

tact. Cette action inductrice s'est traduite par une différenciation progressive bientôt suivie d'une redifférenciation de formations conductrices (fig. 71). L'examen de coupes pratiquées à des niveaux de plus en plus éloignés de celui de la figure 71, permet de suivre les divers stades de l'influence exercée par le bourgeon et de constater, notamment, que cette influence s'est orientée uniquement dans le sens feuille-racine, en se dirigeant obliquement vers la zone génératrice de l'explantat.

Par contre, l'examen de coupes pratiquées dans les témoins montre que les greffons mutilés n'exercent, en aucun cas, une action histogène quelconque sur les sujets.

Ces résultats permettent de confirmer l'hypothèse formulée par SNOW, et de démontrer, d'une manière irréfutable, la nature humorale de l'action histogène exercée par les bourgeons sur les tissus sous-jacents.

*
* *

Ainsi, les résultats que nous venons d'exposer ont été plus complets en utilisant comme film perméable une pellicule de cellophane qu'en interposant une lame de gélose. Toutefois, les remaniements tissulaires observés dans le sujet au travers d'un film de gélose ont présenté un intérêt spécial, car ils nous ont permis d'établir que le tissu cambial présente une réactivité beaucoup plus grande que les parenchymes libérien et vasculaire qui en dérivent.

TROISIÈME PARTIE

ESSAIS DE CARACTÉRISATION DES FACTEURS MORPHOGÈNES SÉCRÉTÉS PAR LES BOURGEONS

Dans les chapitres précédents, nous avons montré que les bourgeons en voie de croissance sécrètent des substances diffusibles, capables de déterminer des processus d'histogénèse. Nous pensons rechercher à présent la nature de cette hormone.

Pour résoudre ce problème, nous avons songé, tout d'abord, à employer la méthode directe, qui aurait consisté, par exemple, à extraire et à identifier chimiquement les facteurs responsables des phénomènes d'histogénèse. Un tel travail aurait dépassé, de loin, le cadre de nos recherches et nous n'avons pas tenté de l'entreprendre. Nous nous sommes borné, plus modestement, à étudier d'une manière indirecte la nature du facteur histogène, en comparant son action à celle de substances excito-formatrices connues.

D'autre part, nous avons tenté de déterminer s'il existe, conformément à l'opinion de certains auteurs, une relation entre l'auxine et l'agent qui provoque l'inhibition des bourgeons. Nous envisagerons successivement ces deux points.

CHAPITRE I

COMPARAISON ENTRE L'ACTION HISTOGENE PROVOQUEE PAR LES BOURGEONS ET CELLE DETERMINEE PAR DES SUBSTANCES CONNUES

Nous avons tenté d'obtenir quelques précisions sur la nature du facteur histogène sécrété par les bourgeons, en recherchant s'il existerait des composés synthétiques capables d'exercer une action similaire.

Nous avons pensé que ces composés devaient être recherchés dans le groupe des hétéro-auxines, qui renferme de nombreuses substances morphogènes possédant des activités très diverses. Notre choix n'a pas été fait au hasard : en effet, nous avons été guidé par les recherches réalisées par de nombreux auteurs (KÖGL, HAAGEN-SMIT, ERXLEBEN, KOSTERMANS, ZIMMERMAN, HITCHCOCK, etc...) sur les actions morphogènes d'un grand nombre de « facteurs de croissance ». Ces recherches ont permis d'établir une classification de ces substances basée sur une connaissance plus ou moins précise de leurs propriétés. Certaines d'entre elles, l'acide indole-acétique et ses homologues supérieurs, l'acide naphthalène-acétique, etc... ont fait l'objet de nombreux travaux ; d'autres, par exemple les dérivés des acides benzoïque, naphtoxy-acétique, phénoxy-acétique, que l'on utilise couramment en pratique horticole, n'ont été étudiés que de façon très superficielle, et, en particulier, leurs propriétés histogènes sont mal connues.

En choisissant les composés destinés à nos études, nous nous sommes efforcé de nous adresser à des groupes présentant différentes activités, ainsi que l'indique le tableau I. L'examen de ce tableau montre que certains des corps que nous avons retenus étaient très rhizogènes, alors que d'autres ne favorisaient pas la formation de racines. D'autres encore étaient sans action sur l'élongation cellulaire, mais provoquaient, par contre, des déformations sur les feuilles de Tomate. Nous pouvions ainsi espérer qu'en expérimentant avec des substances possédant des propriétés aussi variées, nous parviendrions à en trouver dont les effets seraient analogues à ceux produits par les bourgeons.

TABLEAU I

*Résumé des propriétés connues des diverses substances
de croissance expérimentées.*

Composé étudié	Propriétés connues
Ac. indole-3-acétique	Action sur l'élongation cellulaire vers 10^{-8} . Action sur la multiplication cellulaire entre 10^{-9} et 10^{-6} . Inhibition des bourgeons à partir de 10^{-6} . Action rhizogène entre 10^{-7} et 10^{-5} .
Ac. indole-3-propionique	Propriétés mal précisées ; très peu actif sur l'élongation cellulaire.
Ac. indole-3-butyrique	Propriétés voisines de celles de l'ac. indole-acétique, mais plus rhizogène.
Ac. α -naphtalène-acétique	Propriétés voisines de celles de l'ac. indole-acétique, mais actions inhibitrice et rhizogène plus intenses.
Ac. β -naphtoxy-acétique	Action morphogène sur les feuilles de Tomate. Action rhizogène intense.
Ac. o-chlorophénoxy-acétique	Action sur l'élongation cellulaire ; action morphogène sur les feuilles de Tomate ; peu rhizogène.
Ac. 2,4-dichlorophénoxy-acétique	<i>Extrêmement actif</i> : Action sur la multiplication cellulaire à partir de 10^{-12} ; très rhizogène.
Ac. 2,5-diméthylphénoxy-propionique	Action sur l'élongation cellulaire (à partir de 5.10^{-4}) ; pas d'effet morphogène sur les feuilles de Tomate.
Ac. 3,5-diméthylphénoxy-butyrique	Pas d'action sur l'élongation cellulaire ; action morphogène sur les feuilles de Tomate (à partir de 5.10^{-2}).
Ac. 2,5-dichlorobenzoïque et Ac. 2,3,5-triiodobenzoïque	Pas d'action sur l'élongation cellulaire ; action morphogène sur les feuilles de Tomate.

Nous avons employé deux méthodes différentes pour étudier les modifications histologiques éventuellement provoquées par ces « régulateurs de croissance ».

L'une de ces méthodes fut inspirée de celle mise au point par GAUTHERET lors de ses recherches sur la polarité de circulation de l'hétéro-auxine dans les tissus de Carotte. Elle consiste à incorporer la substance à étudier au milieu de culture, et à placer au contact de celui-ci l'extrémité foliaire d'un fragment de racine d'Endive. Nous n'avons jamais immergé la face radicale des explantats dans le substrat, car nous n'aurions pas pu obtenir ainsi des remaniements à l'intérieur des tissus ; on sait en effet que le transport des acides indole-acétique, naphthalène-acétique, 2,4-dichlorophénoxy-acétique, naphtoxy-acétique, ne s'effectue que dans le sens feuille-racine (GAUTHERET, SWANSON, etc...) si bien qu'on ne peut espérer les faire pénétrer qu'en les appliquant sur la région foliaire des explantats.

La quantité de produit à ajouter au milieu a été choisie de manière telle qu'on ne puisse risquer de provoquer des réactions anormales des tissus ; pour cela, nous avons cherché à faire agir sur les explantats des doses de facteurs de croissance du même ordre de grandeur que les quantités d'auxine sécrétées par les bourgeons d'Endive en voie de croissance active. Des dosages effectués avec le test-avoine de WENT ayant montré que cette quantité varie entre 3 et $6 \cdot 10^{-7}$, nous avons incorporé au milieu de culture 1 mgr. par litre de chaque substance que nous souhaitions étudier, c'est-à-dire une concentration de 10^{-6} , afin d'avoir des chances de rester dans la limite des doses physiologiques.

La seconde méthode que nous avons utilisée consistait à se servir de lanoline émulsionnée avec une solution aqueuse du produit à étudier (méthode de LAIBACH). Nous avons confectionné des pâtes contenant 0,15 % de substance de croissance, afin d'apprécier l'action éventuelle exercée par des composés qui se seraient avérés inactifs à des concentrations de 10^{-6} . Ces différentes pâtes furent appliquées sur l'extrémité foliaire de fragments de racine d'Endive, dont l'extrémité opposée était plongée dans un milieu de culture dépourvu de substances de division.

Examinons maintenant les résultats que nous avons obtenus, tout d'abord, avec de la gélose additionnée de substances synthétiques, puis avec les applications de lanoline.

I. — Substances excito-formatrices en solution dans le milieu de culture.

Des explantats dont la face foliaire était appliquée contre la gélose contenant les différentes substances morphogènes ont été fixés 3, 6, 8 et 10 jours après leur mise en culture. Nous les avons alors débités en coupes transversales que nous avons examinées au microscope. Nous avons constaté que les résultats présentent le plus de netteté au bout de 8 jours, car, à ce moment, les différences individuelles manifestées par les fragments s'étaient atténuées, et, d'autre part, les ébauches de bourgeons éventuellement édi-

fiées dans les tissus étaient encore trop petites pour exercer une action histogène décelable. Tous les résultats qui vont être décrits à présent concernent donc des fragments ayant été cultivés pendant 8 jours.

Nous examinerons, en premier lieu, la structure de fragments témoins déposés sur un milieu dépourvu de substances de division, puis nous la comparerons ensuite à celle des explantats traités par les divers facteurs de croissance.

A. — Témoins

Le cal, formé par la région foliaire des explantats qui est immergée dans le milieu, ne présente aucune particularité anatomique : il est formé par une masse parenchymateuse dont les régions superficielles sont légèrement nécrosées, ce qui est dû, vraisemblablement, aux conditions asphyxiques auxquelles sont soumis les tissus. Il s'est édifié dans ce cal un nombre d'ébauches de bourgeons bien plus considérable que si l'extrémité foliaire s'était développée dans l'air : la néoformation des ébauches semble donc favorisée par le contact du milieu, ce qui confirme les assertions de PREVOT et de WHITE.

Un examen ultérieur des explantats, cultivés dans de telles conditions, révèle que l'évolution de ces ébauches en tiges feuillées se produit très rarement; ceci corrobore les observations morphologiques effectuées précédemment, concernant l'action inhibitrice du substrat sur le développement des bourgeons.

Si l'on observe les régions des fragments situées juste en-dessous du cal, on constate qu'elles ne se sont pas modifiées, ni spontanément, ni sous l'influence des bourgeons; ceci n'est pas surprenant, car les ébauches de bourgeons ne sont alors constituées que par quelques cellules méristématiques, et ne peuvent encore exercer d'action histogène décelable.

B. — Modifications anatomiques

provoquées par diverses substances de croissance synthétiques

Nous allons étudier successivement les remaniements histologiques éventuellement déterminés par les onze produits que nous avons choisis.

Nous distinguerons deux régions dans les explantats ayant subi l'action des diverses substances : l'une, superficielle, est constituée par des tissus néoformés, complètement remaniés. Au-dessous de celle-ci, on trouve une région dans laquelle certains tissus, très sensibles à la substance, sont modifiés, tandis que d'autres, moins sensibles, ont conservé leur aspect primitif.

A la région entièrement remaniée, nous donnerons le nom de cal; à la région partiellement remaniée, dans laquelle certains constituants mor-

phologiques ont conservé leur structure normale, nous garderons le nom de tissu préexistant, que nous avons employé jusqu'à maintenant pour désigner les régions internes des explantats qui ne se modifiaient pas spontanément au cours de la culture *in vitro*.

a) ACIDE INDOLE-3-ACÉTIQUE.

L'examen de coupes transversales pratiquées dans des explantats dont la région foliaire a été en contact pendant huit jours avec un milieu nutritif contenant 10^{-6} d'acide indole-acétique donne les résultats suivants :

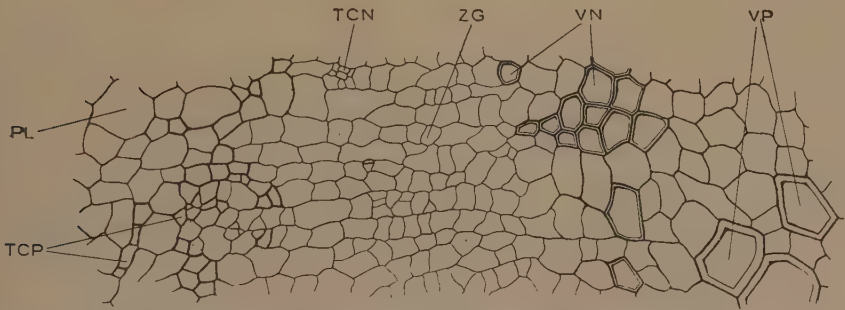


Fig. 72. — Modifications provoquées par l'acide indole-3-acétique au niveau de la zone génératrice d'un fragment de racine d'Endive.

Coupe pratiquée dans un fragment de racine d'Endive dont l'extrémité foliaire fut soumise, pendant huit jours, à l'action de l'acide indole-acétique. On constate que la zone génératrice (ZG) a proliféré pour donner, sur sa face interne, du parenchyme vasculaire dans lequel se sont différenciés quelques vaisseaux (VN) et sur sa face externe, quelques assises de liber contenant des tubes criblés néoformés (TCN).

PL : Parenchyme libérien ; TCP : Tubes criblés préexistants ; VP : Vaisseaux préexistants.

Les régions superficielles du cal sont formées en grande partie de cellules géantes : celles-ci deviennent de moins en moins nombreuses à mesure que l'on examine des sections de plus en plus éloignées de la surface du cal, et les régions internes de celui-ci sont constituées par un tissu en voie de prolifération modérée.

Le tissu préexistant présente des remaniements importants : on constate, en effet, que la zone génératrice a proliféré de façon considérable pour donner naissance, sur toute son étendue, à plusieurs assises de parenchyme vasculaire contenant des îlots de cellules ligneuses. L'observation des coupes montre, en outre, que les cordons libériens se sont profondément modifiés, en formant sur leur trajet des faisceaux libéro-ligneux. Ces faisceaux sont constitués par des îlots vasculaires, très allongés dans le sens de l'axe du cordon libérien, et entourés de massifs criblés néoformés,

également très allongés. Entre ces deux types d'éléments, on distingue un rudiment de zone génératrice. Par contre, la masse parenchymateuse du liber ne s'est pas modifiée.

Ces remaniements histologiques sont de plus en plus discrets à mesure que l'on s'éloigne de la surface du cal. C'est ainsi qu'à 3 ou 4 mm. au-dessous de la limite séparant le tissu préexistant du cal, on constate que la prolifération de la zone génératrice cesse d'être continue pour se restreindre

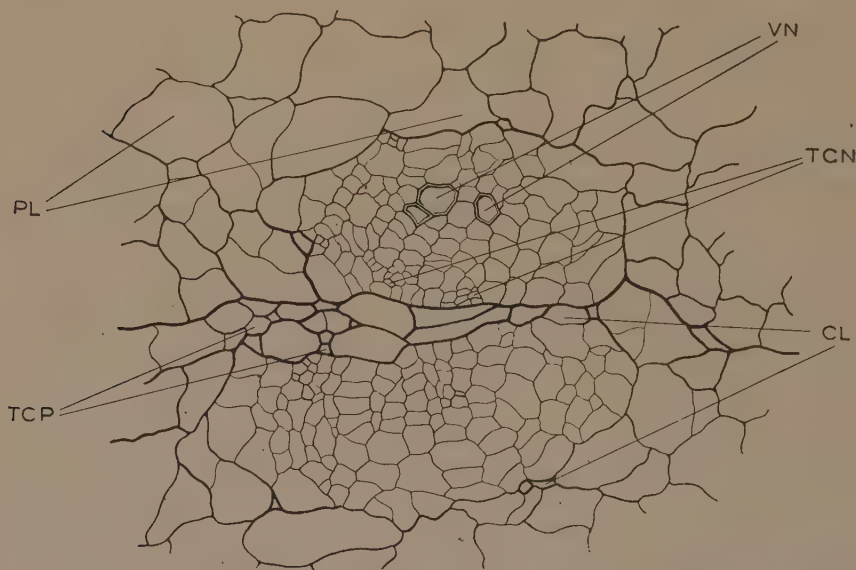


Fig. 73. — Modifications provoquées par l'acide indole-3-acétique dans le liber d'un fragment de racine d'Endive.

Coupe pratiquée dans un fragment de racine d'Endive dont l'extrémité foliaire fut soumise pendant 8 jours à l'action de l'acide indole-acétique. La section intéresse un niveau situé à 6 mm. au-dessous de la limite du cal, et représente un cordon libérien (CL) profondément modifié; ce cordon présente une plage dédifférenciée, au sein de laquelle sont apparus des vaisseaux (VN) et des tubes criblés néoformés (TCN), séparés par un rudiment de zone génératrice. Le parenchyme libérien (PL) n'est pas modifié. TCP : Tubes criblés préexistants.

dre exclusivement aux régions situées en face des files de vaisseaux préexistants. A ce niveau, le cambium produit, sur sa face interne, un parenchyme dont certaines cellules se sont lignifiées pour donner des vaisseaux de petit calibre (fig. 72).

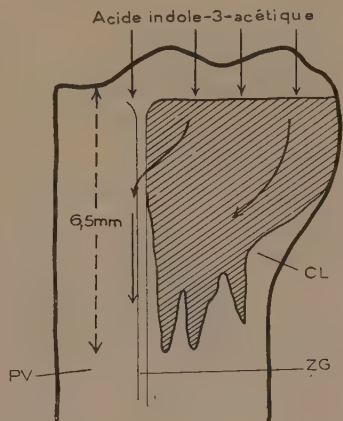
Les réactions des cordons libériens s'atténuent également, et les formations cribro-vasculaires qu'ils produisent, au lieu d'être continues comme c'est le cas au voisinage du cal, prennent l'aspect de nodules isolés. En outre, les phénomènes de différenciation manifestés par ces cordons libériens diminuent considérablement; à environ 6 mm. du cal, on n'observe

plus que des plages dédifférenciées, contenant seulement quelques tubes criblés accompagnés de un, deux ou trois vaisseaux de petite taille (fig. 73). Si l'on examine des coupes pratiquées à des niveaux encore plus bas, à 6,5 mm. environ du cal, on n'y rencontre plus aucun vaisseau, et, finalement, les tubes criblés disparaissent eux aussi. L'influence de l'acide indole-acétique ne se manifeste alors que par une dédifférenciation du cordon libérien qui cesse bientôt, et l'on n'observe plus aucun remaniement tissulaire.

Si l'on considère maintenant l'orientation de la pénétration de l'acide indole-acétique dans les cordons libériens, on constate que cette substance ne se déplace pas dans les tissus parallèlement à la zone génératrice : en

Fig. 74. — Schéma indiquant les limites et l'orientation des remaniements provoqués par l'acide indole-3-acétique dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

La figure représente une coupe longitudinale radiale passant par un cordon libérien (CL). La région hachurée indique les régions du cordon libérien présentant des remaniements tissulaires, et, les flèches, l'orientation de ces remaniements. L'acide indole-acétique détermine, dans les cordons libériens, des modifications histologiques orientées vers la zone génératrice (ZG). PV : Parenchyme vasculaire.



effet, les remaniements histologiques qu'elle détermine au cours de son transport, et, en particulier, les vaisseaux néoformés, sont orientés vers le cambium de l'explantat (fig. 74).

Envisageons enfin la question de la néoformation des organes; on constate qu'il ne s'est différencié aucun bourgeon, ni dans le cal, ni dans le tissu préexistant. Par contre, il est apparu de nombreuses ébauches de racines bien individualisées. Celles-ci ont pris naissance, soit à partir de la zone génératrice, soit à partir des cordons libériens modifiés à proximité de celle-ci.

En résumé, l'acide indole-acétique se déplace au sein des tissus de la racine d'Endive en provoquant des remaniements caractéristiques :

— Il excite la prolifération de la zone génératrice.

— Il provoque dans les cordons libériens des modifications progressives orientées vers la zone génératrice de l'explantat, et caractérisées par une dédifférenciation des tissus bientôt suivie d'une redifférenciation d'éléments cribro-vasculaires.

b) ACIDE INDOLE-3-PROPIONIQUE.

L'aspect des cals formés par les explantats est identique à celui des témoins, la zone génératrice et les cordons libériens ne prolifèrent pas ; de plus des ébauches de bourgeons se différencient en nombre normal dans les tissus (1).

c) ACIDE INDOLE-3-BUTYRIQUE.

Les remaniements histologiques provoqués par cette substance, au niveau du cal et du tissu préexistant, sont identiques à ceux que nous venons de décrire pour l'acide indole-acétique. Toutefois, nous avons observé que la pénétration de l'acide indole-butyrique, au sein des cordons libériens, est encore plus nettement orientée vers la zone génératrice de l'explantat que celle de l'acide indole-acétique (fig. 75).

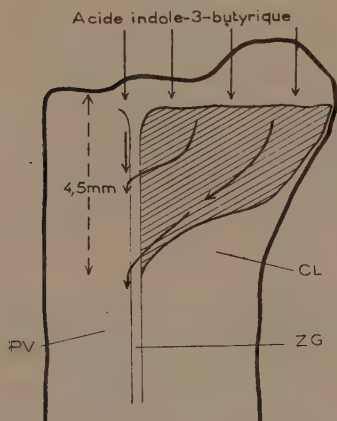


Fig. 75. — Schéma indiquant les limites et l'orientation des remaniements provoqués par l'acide indole-3-butyrique dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

Comparer avec la figure 74. La pénétration de l'acide indole-butyrique est encore plus nettement orientée vers le cambium de l'explantat que celle de l'acide indole-acétique.

Ce produit exerce également une inhibition accusée sur la néoformation des bourgeons, mais semble un peu moins rhizogène que l'acide indole-acétique.

d) ACIDE α -NAPHTALÈNE-ACÉTIQUE.

Le cal formé sous l'influence de cette substance ne présente pas une structure hétérogène comme dans le cas des acides indole-acétique et indole-butyrique, mais il est formé exclusivement de cellules géantes.

Dans le tissu préexistant, l'acide naphthalène-acétique provoque des

(1) Remarquons toutefois que le produit que nous avons utilisé avait été fabriqué en 1937 par la firme Heyl and Co, et il se peut qu'il ait perdu toute activité en raison de son ancienneté.

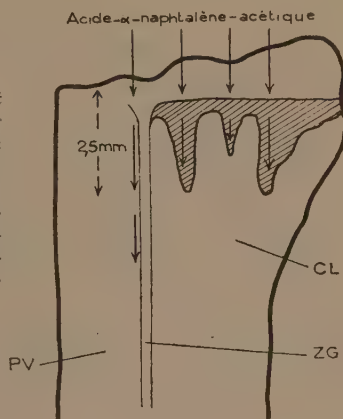
remaniements de la zone génératrice et des cordons libériens ayant la même structure que ceux induits par l'acide indole-acétique. Toutefois, la masse fondamentale du liber présente de nombreuses cellules géantes.

Les modifications histologiques dans les cordons libériens ne se manifestent pas très profondément et cessent à 2,5 mm. environ en-dessous de la limite du cal. En outre, la pénétration s'effectue parallèlement au grand axe des explantats et ne s'infléchit jamais vers la zone génératrice (fig. 76).

On n'observe aucune ébauche de bourgeon dans les tissus. Par contre, on constate qu'il s'édifie quelques méristèmes radiculaires au niveau de la zone génératrice.

Fig. 76. — Schéma indiquant les limites et l'orientation des remaniements provoqués par l'acide α -naphthalène-acétique dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

Cette substance pénètre beaucoup moins profondément dans les tissus que les acides indole-acétique et indole-butyrique. De plus, les remaniements induits ne s'orientent jamais vers le cambium.



En résumé, l'acide naphthalène-acétique se déplace dans les tissus en provoquant des remaniements tissulaires au niveau de la zone génératrice et des cordons libériens; les modifications anatomiques qu'il induit présentent de grandes analogies avec celles produites lors du transport de l'acide indole-acétique. Néanmoins, le fait que la pénétration de cette substance excito-formatrice n'est, en aucun cas, orientée par les tissus vers la zone génératrice de l'explantat, permet de distinguer nettement l'action de ces deux produits.

c) ACIDE β -NAPHTHOXY-ACÉTIQUE.

Le cal formé sous l'action de cette substance est constitué essentiellement de cellules géantes, mais dès qu'on examine des sections intéressant le tissu préexistant, on constate que la zone génératrice et les cordons libériens ont subi de profondes modifications.

Au lieu de produire sur sa face interne du parenchyme renfermant quelques vaisseaux, comme c'est le cas lorsque l'on place des fragments sur un milieu contenant de l'acide indole-acétique, la zone génératrice

donne naissance uniquement à des cellules pourvues d'épaississements réticulés, en général faiblement lignifiés. On n'observe plus qu'un petit nombre d'éléments parenchymateux, et parfois même, les phénomènes de différenciation sont si accusés que le méristème secondaire disparaît et l'on observe alors, côte à côte, des vaisseaux et des tubes criblés aberrants.

Les cordons libériens présentent, de place en place, des îlots cribro-vasculaires plus ou moins allongés, mais toujours très différenciés. Fréquemment, on ne remarque aucune ébauche de zone génératrice entre les éléments libéro-ligneux de ces îlots.

L'examen de coupes pratiquées à des niveaux de plus en plus éloignés de la limite du cal permet d'apprécier une diminution progressive de l'intensité de ces phénomènes. Peu à peu, les processus de différenciation au niveau de la zone génératrice deviennent moins intenses. Toutefois, les éléments conducteurs formés sont toujours aberrants (fig. 77). Parallèle-

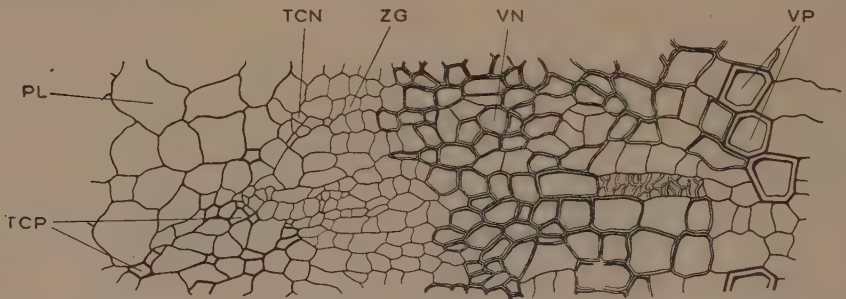


Fig. 77. — Modifications provoquées par l'acide β -naphthoxy-acétique au niveau de la zone génératrice d'un fragment de racine d'Endive.

Coupe pratiquée dans un fragment de racine d'Endive dont l'extrémité foliaire fut soumise pendant 8 jours, à l'action de l'acide naphthoxy-acétique. On constate que la face interne de la zone génératrice (ZG) a produit de nombreuses cellules lignifiées contiguës (VN), et qu'il est apparu, sur sa face externe quelques tubes criblés néoformés (TCN). Ces formations sont très aberrantes (comparer avec la fig. 72). PL : Parenchyme libérien, TCP : Tubes criblés préexistants, VP : Vaisseaux préexistants.

ment, la superficie des îlots cribro-vasculaires formés dans les cordons libériens diminue et l'on observe, dans les régions de ceux-ci situées à la limite de pénétration, une plage dédifférenciée au sein de laquelle on distingue encore quelques cellules faiblement lignifiées et quelques tubes criblés néoformés disséminés d'une manière anarchique (fig. 78). Aux points extrêmes de la pénétration de l'acide naphthoxy-acétique dans les cordons libériens, c'est-à-dire une profondeur de 4,5 mm. environ en dessous de la limite du cal, ainsi qu'au niveau de la zone génératrice, on observe la formation de nombreux méristèmes radiculaires. Il n'apparaît jamais de bourgeons.

La pénétration de cette substance dans les cordons libériens est orientée de manière très nette vers la zone génératrice de l'explantat. En effet, à mesure que l'on s'enfonce dans les tissus, les régions les plus externes des files de cellules criblées présentent peu à peu un aspect normal. De place en place, les vaisseaux néoformés se différencient obliquement, s'orientant ainsi vers le cambium (fig. 79).



Fig. 78. — Modifications provoquées par l'acide β -naphtoxy-acétique dans le liber d'un fragment de racine d'Endive.

Coupe pratiquée dans un fragment de racine d'Endive dont l'extrémité foliaire fut soumise, pendant huit jours, à l'action de l'acide naphtoxy-acétique. La section intéresse un niveau situé à 4 mm. environ en-dessous de la limite du cal, et représente un cordon libérien profondément modifié. On peut observer des vaisseaux (VN) et des tubes criblés néoformés (TCN) disséminés dans une plage dédifférenciée. Ces éléments sont disposés d'une manière anarchique, et l'on remarque, par exemple, des cellules lignifiées contiguës à des tubes criblés préexistants (TCP) (comparer avec la fig. 73). Le parenchyme libérien (PL) n'est pas modifié.

Nos recherches confirment les résultats de GAUTHERET, qui, étudiant *in vitro* l'action de l'acide naphtoxy-acétique, a constaté que ce produit détermine, dans les tissus de Topinambour, de Carotte et d'Endive, des modifications histologiques caractéristiques, très accusées pour des concentrations de l'ordre de 10^{-8} à 10^{-7} .

En résumé, l'acide naphtoxy-acétique se déplace dans les tissus en provoquant des remaniements tissulaires tout à fait aberrants. La zone géné-

ratrice produit des vaisseaux à membrane peu lignifiée, à disposition anormale, et les cordons libériens présentent des formations cribro-vasculaires bien différentes de celles qui se forment sous l'influence des substances précédemment étudiées. Toutefois, la conduction de ce composé est orientée de façon très nette vers le cambium des fragments expérimentés.

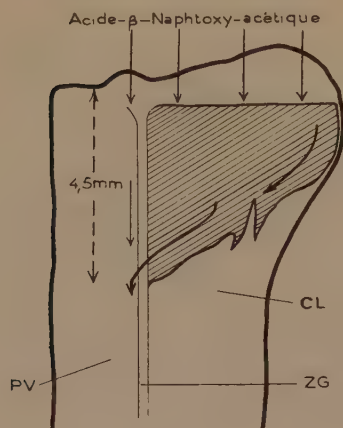


Fig. 79. — Schéma indiquant les limites et l'orientation des remaniements provoqués par l'acide β-naphtoxy-acétique dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

Les remaniements histologiques induits dans les cordons libériens s'orientent nettement vers la zone génératrice de l'explantat.

f) ACIDE O-CHLOROPHÉNOXY-ACÉTIQUE

Le cal apparu sur l'extrémité foliaire des explantats ayant subi l'action de ce composé présente un aspect et une structure comparables à ceux des témoins. Toutefois, aucune ébauche de bourgeons ne se différencie dans les tissus néoformés, pas plus que dans les régions internes des fragments.

Les cordons libériens ne présentent aucune modification structurale et la zone génératrice ne prolifère pas. Quelques méristèmes radiculaires apparaissent dans les tissus, en général dans les régions situées au voisinage de la zone génératrice.

Ainsi, l'acide o-chlorophénoxy-acétique ne provoque pas de remaniements histologiques à la concentration de 10^{-6} , il exerce simplement une action inhibitrice intense sur la néoformation des bourgeons, et semble favoriser légèrement l'apparition de racines.

g) ACIDE 2,4-DICHLOROPHÉNOXY-ACÉTIQUE.

Le cal constitué sous l'influence de ce produit est formé presque uniquement par des cellules géantes.

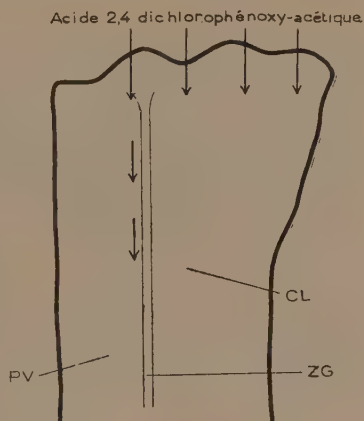
Dès que les coupes intéressent le tissu préexistant, on remarque que la

zone génératrice prolifère de façon considérable sur toute son étendue, pour donner des néoformations à structure identique à celles que nous avons signalées pour l'acide β -naphtoxy-acétique. Toutefois, les cellules sont plus lignifiées que dans le cas précédent, et les phénomènes de différenciation encore plus aberrants. On observe, par exemple, des vaisseaux de part et d'autre du cambium, dont la largeur a considérablement diminué, et qui, parfois même, en certains endroits, a complètement disparu.

Par contre, les cordons libériens ne présentent aucun remaniement et l'influence de l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique se borne à la formation de très nombreuses cellules géantes dans le parenchyme libérien (fig. 80).

A mesure que l'on examine des sections intéressant des régions de plus en plus internes, tous ces phénomènes diminuent progressivement d'intensité. A une distance d'environ 5 mm. de la limite du cal, la prolifération de la zone génératrice cesse d'être continue. Toutefois, même à ce niveau,

Fig. 80. — Schéma indiquant les limites et l'orientation des remaniements provoqués par l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.



Les cordons libériens ne présentent aucun remaniement sous l'influence de l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique. Seule, la zone génératrice réagit à l'action excito-formatrice de ce produit.

le parenchyme libérien présente encore de très nombreuses cellules géantes.

On observe de nombreux méristèmes radiculaires, en général associés en plages mal délimitées, et qui apparaissent toujours à partir de la zone génératrice de l'explantat. Aucun bourgeon ne s'édifie dans les tissus.

Nos résultats confirment les observations effectuées par GAUTHERET sur des fragments de tubercule de Carotte, d'Endive et de Topinambour, ainsi que les travaux de SWANSON et de BEAL sur des plantules de Haricot.

En résumé, l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique provoque, au cours de son transport par les tissus, des remaniements histologiques caractérisés par la formation de cellules géantes et par une prolifération aberrante de la zone génératrice. Les cordons libériens, par contre, ne réagissent pas à l'influence excito-formatrice de cette substance.

h) ACIDE 2,5-DIMÉTHYLPHÉNOXY-PROPIONIQUE.

Le cal édifié en présence d'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique présente une structure comparable à celle des témoins, et l'on y rencontre un grand nombre de méristèmes de bourgeons.

La zone génératrice produit quelques vaisseaux à structure et à disposition identiques à ceux que provoque l'acide indole-acétique. Les cordons libériens présentent des plages dédifférenciées dans lesquelles il n'apparaît aucun élément lignifié.

A mesure que l'on s'enfonce dans les tissus, on constate que les néoformations produites par la zone génératrice et les cordons libériens diminuent progressivement d'importance, et, à une profondeur de 3,5 mm. en-dessous de la limite du cal, on n'observe plus de remaniements de ces derniers. D'autre part, la pénétration de l'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique s'effectue parallèlement à la zone génératrice de l'explantat (fig. 81). Enfin, aucune ébauche de racines ne se différencie dans les tissus.

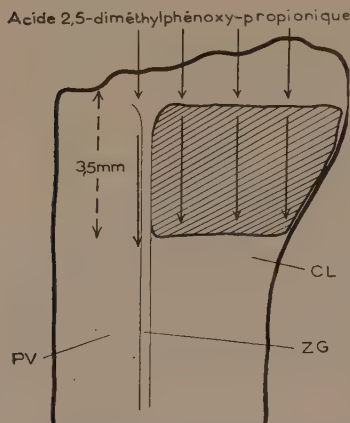


Fig. 81. — Schéma indiquant les limites et l'orientation des remaniements provoqués par l'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique dans la région foliaire d'un fragment de racine d'Endive.

L'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique détermine, dans les cordons libériens, des remaniements orientés parallèlement au grand axe des explantats.

En résumé, l'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique provoque, au cours de sa conduction dans les tissus, une dédifférenciation des cordons libériens qui n'est pas accompagnée d'une redifférenciation de formation cribro-vasculaires ; il détermine, en outre, une prolifération de la zone génératrice, qui donne naissance, sur sa face interne, à un parenchyme cellulosique contenant quelques cellules lignifiées.

i) ACIDE 3,5-DIMÉTHYLPHÉNOXY-BUTYRIQUE.

L'examen anatomique des explantats ayant subi l'action de ce composé à une concentration de 10^{-6} révèle que la structure du cal est identique à celle des témoins. Toutefois, aucune ébauche de bourgeon ne se différencie dans les explantats.

Dans les régions internes du fragment, les cordons et le parenchyme libériens, ainsi que la zone génératrice, ne présentent aucune modification. Aucun méristème radiculaire n'apparaît dans les tissus.

j) ACIDE 2,5-DICHLOROBENZOÏQUE ET ACIDE 2,3,5-TRIODOBENZOÏQUE.

Ces deux corps ne provoquent aucune modification anatomique dans les conditions où nous les utilisons. Le cal ainsi que les régions profondes des explantats présentent une structure identique à celle des témoins; les prismes traités différencient des ébauches de bourgeons, en nombre comparable à celui des méristèmes apparaissant sur les explantats déposés à la surface d'un milieu dépourvu de substances excito-formatrices.

II. — Substances excito-formatrices en solution dans la lanoline

Nous avons étudié, par cette technique, l'influence histogène exercée par de fortes doses ($1,5 \cdot 10^{-3}$) des composés qui se révélaient inactifs lorsque nous les faisons agir à la concentration de 10^{-6} (acides *o*-chlorophénoxy-acétique, 3,5-diméthylphénoxy-butyrique, et 2,5-dichloro-benzoïque), ainsi que celle de l'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique qui, dans l'expérience précédente, déterminait seulement une dédifférenciation des cordons libériens.

Nous allons envisager brièvement les résultats que nous avons obtenus en examinant des coupes pratiquées dans des objets fixés cinq jours après l'application de la pâte. Nous considérerons, d'abord, la structure des témoins dont l'extrémité foliaire était recouverte d'une émulsion de lanoline pure, puis celle des fragments ayant subi l'action des divers produits.

A. — Témoins

Le cal apparu sur l'extrémité foliaire des fragments recouverte par une pâte à la lanoline ne contenant pas de substances excito-formatrices possède une structure analogue à celle des témoins décrits dans l'expérience précédente. Il est formé par un parenchyme homogène en voie de division modérée, et ses régions superficielles présentent de nombreuses cellules nécrosées.

Les régions internes du fragment ne manifestent aucune activité et, en particulier, la zone génératrice ne prolifère pas.

**B. — Modifications anatomiques
provoquées par diverses substances de croissances synthétiques**

a) ACIDE O-CHLOROPHÉNOXY-ACÉTIQUE.

Lorsqu'on fait agir une pâte à la lanoline contenant de l'acide o-chlorophénoxy-acétique, on constate que le cal est constitué par de nombreuses cellules géantes au milieu desquelles on distingue l'extrémité des cordons libériens. Ceux-ci se sont profondément différenciés, mais sans subir de différenciation ultérieure : notamment, ils n'ont formé aucun élément lignifié.

Dès que les coupes examinées intéressent les régions profondes de l'explantat, on constate que la région de la zone génératrice a donné naissance à de nombreuses assises de cellules ligneuses de part et d'autre des cordons libériens, souvent même en plein parenchyme libérien. Ces cellules ligneuses, en général de fort calibre, proviennent de la lignification de cellules banales, qui, la plupart du temps, ne se sont pas recloisonnées au préalable.

Enfin, quelques méristèmes radiculaires se sont formés au voisinage de la zone génératrice.

b) ACIDE 2,5-DIMÉTHYLPHÉNOXY-PROPIONIQUE.

Les remaniements histologiques apparaissant lors de la conduction par les tissus de l'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique agissant à forte concentration sont encore plus singuliers que les précédents.

Le cal, constitué en majeure partie par des plages de cellules en voie de division très active, ne présente que peu de cellules géantes. On ne distingue aucun élément lignifié parmi les plages méristématiques.

Mais, dès que l'on examine des sections de l'explantat intéressant des régions n'ayant pas participé à l'édification du cal, les manifestations histologiques de la conduction du produit deviennent extrêmement complexes.

L'emplacement qu'occupait primitivement la zone génératrice de l'explantat est transformé en une zone de cellules fortement lignifiées. Cette plage n'a pas de limites bien nettes. Dans les cordons libériens, et sur presque toute la longueur de ceux-ci, on observe de grandes plages différenciées au sein desquelles sont apparues des formations cribro-vasculaires. Celles-ci présentent parfois une disposition cyclisée, ou consistent simplement en éléments libériens et en vaisseaux aberrants disséminés d'une manière tout à fait anarchique.

Si l'on examine ensuite des coupes effectuées dans des régions encore

plus éloignées de la limite du cal, on remarque que les éléments ligneux, formés dans les cordons libériens modifiés, sont de moins en moins nombreux. Il apparaît, d'autre part, dans la profondeur des tissus, d'autres types de plages méristématiques constituées par de nombreux méristèmes radiculaires coalescents.

Les modifications complexes induites par de fortes concentrations d'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique traduisent des troubles physiologiques profonds. Elles mériteraient une étude évolutive plus approfondie.

c) ACIDE 3,5-DIMÉTHYLPHÉNOXY-BUTYRIQUE.

Le cal présente une structure très voisine de celle des témoins. Toutefois, on y rencontre quelques cellules géantes. La zone génératrice produit quelques assises de parenchyme vasculaire au sein duquel se différencient des vaisseaux bien lignifiés ; les cordons libériens ne subissent aucune modification, et il n'apparaît pas de méristèmes radiculaires.

L'acide 3,5-diméthylphénoxy-butyrique semble donc provoquer dans les tissus d'Endive des remaniements beaucoup moins importants que les autres composés expérimentés.

d) ACIDE 2,5-DICHLORO-BENZOÏQUE.

Le cal édifié sous une couche de pâte à la lanoline contenant de l'acide 2,5-dichloro-benzoïque est formé par un parenchyme homogène à peine plus recloisonné que celui des témoins.

Dans le tissu préexistant, on constate que les cellules des cordons libériens présentent des recloisonnements peu nombreux, ayant précédé l'apparition de quelques éléments lignifiés. Ces modifications ne se produisent d'ailleurs que dans les régions des cordons libériens voisines de la zone génératrice, et sur une faible profondeur au sein de l'explantat. Les cellules de la zone génératrice sont complètement transformées en éléments ligneux réticulés. Aucune ébauche de racine ne se différencie dans les tissus.

III. — RESUME

Après avoir ainsi décrit les remaniements tissulaires provoqués par des « facteurs de croissance » très divers, il n'est pas inutile que nous résumions les résultats de nos observations, en nous efforçant de rechercher quelles sont les substances dont l'activité est analogue à celle du facteur histogène sécrété par les bourgeons.

Nous ne tiendrons pas compte des remaniements provoqués par l'appli-

TABLEAU II

Influences morphogènes exercées par diverses substances de croissance synthétiques, à la concentration de 10^{-4} , sur des fragments de racine d'Endive cultivés in vitro.
 Les modifications induites par le facteur histogène sont mentionnées sur ce tableau afin de permettre de les comparer à celles déterminées par les substances artificielles. Le pouvoir rhizogène est évalué au moyen d'astérisques, d'autant plus nombreux que le nombre de racines néoformées est lui-même plus important.

Substance de croissance étudiée.	Structure des néoformations produites par la zone génératrice.	Modifications des cordons libériens.	Orientation des remaniements au sein des cordons libériens.	Inhibition des bourgeons.	Néoformation de racines.
Facteur histogène sécrété par les bourgeons.	Vaisseaux disséminés dans un parenchyme.	Dédifférenciation et redifférenciation de formations conductrices.	Orientation vers la zone génératrice	Aucune preuve d'intervention du facteur histogène dans les corrélations d'inhibition ou de la rhizogénèse	
Acide indole-3-acétique.	Vaisseaux disséminés dans un parenchyme.	Dédifférenciation et redifférenciation de formations conductrices.	Orientation vers la zone génératrice.	Totale.	**
Acide indole-3-propionique.	Aucune action sur la zone génératrice.	Aucune action sur les cordons libériens.	Pas d'action sur les cordons libériens.	Nulle.	Nulle.
Acide indole-3-butirique.	Vaisseaux disséminés dans un parenchyme.	Dédifférenciation et redifférenciation de formations conductrices.	Orientation vers la zone génératrice.	Totale.	*
Acide naphthalène-acétique.	Vaisseaux disséminés dans un parenchyme.	Dédifférenciation et redifférenciation de formations conductrices.	Pénétration parallèle à la zone génératrice.	Totale.	*
Acide naphtoxy-acétique.	Vaisseaux peu lignifiés serrés les uns contre les autres. Pas ou peu d'éléments parenchymateux.	Dédifférenciation et redifférenciation de formations conductrices aberrantes.	Orientation vers la zone génératrice.	Totale.	*** Méristèmes non individualisés.
Acide 0-chlorophénoxy-acétique.	Aucune action sur la zone génératrice.	Aucune action sur les cordons libériens.	Pas d'action sur les cordons libériens.	Totale.	*
Acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique.	Vaisseaux peu lignifiés serrés les uns contre les autres. Pas ou peu d'éléments parenchymateux.	Aucune action sur les cordons libériens.	Pas d'action sur les cordons libériens.	Totale.	*** Méristèmes non individualisés.
Acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique.	Vaisseaux disséminés dans un parenchyme.	Formation de plages méristématiques par dédifférenciation.	Pénétration parallèle à la zone génératrice.	Nulle.	Nulle.
Acide 3,5-diméthylphénoxy-butirique.	Aucune action sur la zone génératrice.	Aucune action sur les cordons libériens.	Pas d'action sur les cordons libériens.	Totale.	Nulle.
Acides 2,5-dichlorobenzoïque et 2,3,5-triiodobenzoïque.	Aucune action sur la zone génératrice.	Aucune action sur les cordons libériens.	Pas d'action sur les cordons libériens.	Nulle.	Nulle.

cation de pâtes à la lanoline contenant de très fortes concentrations des produits expérimentés, car la complexité et l'évolution des phénomènes observés nous permettent d'affirmer qu'il s'agit de processus paraphysiologiques. Nous nous attacherons, par contre, à classer les substances synthétiques étudiées d'après les réactions qu'elles déterminent à la concentration de 10^{-6} .

Le résumé est présenté par le tableau ci-contre (tableau II). Ce tableau relate, pour chaque corps, la structure des néoformations produites par la zone génératrice, puis la nature des actions histogènes éventuellement induites dans les cordons libériens ; il indique, de plus, leur mode de transmission au sein des tissus, et, enfin, le rôle joué par ces composés dans l'inhibition de la formation des bourgeons et les processus de rhizogénèse. Pour rendre la comparaison plus commode, nous avons fait figurer sur le tableau les remaniements provoqués par le facteur histogène que sécrètent normalement les bourgeons ; toutefois, nous n'avons pas considéré pour celui-ci les phénomènes d'inhibition ni la formation des racines, car nous ne savons pas actuellement si ces processus sont provoqués par le facteur histogène ou s'ils sont dus, au contraire, à d'autres substances.

L'examen de ce tableau permet de constater que, sur les onze substances de croissance étudiées, quatre seulement provoquent, au cours de leur conduction par les tissus, des remaniements histologiques comparables, dans l'ensemble, à ceux qui sont induits par le facteur qu'élaborent les bourgeons. Ce sont les acides indole-acétique, indole-butyrique, naphtalène-acétique et naphtoxy-acétique. Ces composés provoquent, en effet, une prolifération de la zone génératrice, ainsi que des processus de dédifférenciation et de redifférenciation dans les cordons libériens.

Mais un examen plus approfondi du détail des actions histogènes qu'exercent ces quatre composés nous amène à en éliminer deux, les acides naphtalène-acétique et naphtoxy-acétique. Dans le cas du premier, la pénétration dans les cordons libériens n'est pas orientée vers la région cambiale, contrairement à ce qui se produit pour le facteur normal. Quant à l'acide naphtoxy-acétique, il provoque, au niveau de la zone génératrice et des cordons libériens, l'apparition de remaniements présentant une structure très différente de ceux qui se manifestent sous l'influence des bourgeons.

Ainsi, seuls les acides indole-3-acétique et indole-3-butyrique déterminent, à la concentration de 10^{-6} , des processus d'histogénèse vraiment comparables à ceux que provoquent les bourgeons. On peut supposer que le facteur sécrété par les méristèmes en voie de croissance active serait, par exemple, de l'auxine, ou peut-être encore de l'acide indole-acétique lui-même que l'on considère à présent comme une véritable hormone végétale (LARSEN, SMITH, BONNER et WILDMAN, HEMBERG, KRAMER et WENT, etc...).

CHAPITRE II

RELATION ENTRE LA TENEUR EN AUXINE DES TISSUS ET LES PHENOMENES D'INHIBITION

Les recherches exposées au début de ce mémoire ont montré que les tissus de la racine d'Endive renferment, au moment du prélèvement, un facteur inhibiteur qui s'accumule sur l'extrémité radicale des explantats, et ne s'épuise pas au cours de la prolifération des tissus en culture.

De nombreux auteurs (SNOW, THIMANN, SKOOG, FERMAN, etc.), se basant sur les phénomènes d'inhibition provoqués par les hétéro-auxines, pensent que l'auxine jouerait un rôle direct ou non dans les processus de corrélation ; d'autres, par exemple, PREVOT et GAUTHERET, estiment, au contraire, que les bourgeons sécrèteraient un facteur inhibiteur particulier, et que l'auxine ne jouerait aucun rôle dans le blocage des méristèmes. Cette question, fort complexe, n'a pas été encore tranchée de manière irréfutable.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant, en nous appuyant sur nos

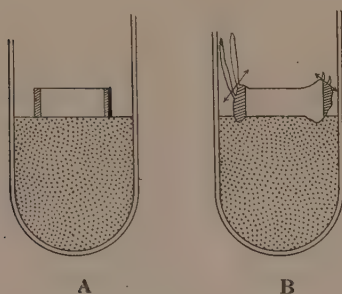


Fig. 82. — Schémas indiquant la localisation des tissus prélevés sur des fragments de racine d'Endive, en vue d'apprécier les quantités d'auxine présentes dans les tissus.

A. — La figure représente un fragment de racine (l'extrémité radicale est schématisée par un trait plus épais) au moment de l'ensemencement. On prélève sur chaque extrémité de l'explantat, une lame de tissu épaisse de 2 à 3 mm. (régions hachurées).

B. — Après un certain temps, le fragment a produit un cal et des bourgeons. Dans ce cas, on prélève encore une mince

tranche du cal formé sur chaque extrémité de la culture. On sectionne les bourgeons qu'elles portent, de manière à apprécier uniquement les quantités d'auxine présentes dans l'explantat.

résultats, de rechercher s'il existerait une relation entre les phénomènes d'inhibition et la teneur en auxine des différentes régions des fragments de tissus. Pour cela, nous avons couché horizontalement des fragments de racine d'Endive à la surface d'un milieu nutritif dépourvu de substances de division, afin que le contact de celui-ci ne risque pas d'influencer, d'une manière quelconque, le développement de l'une ou l'autre de leurs extré-

mités. Puis, nous avons apprécié périodiquement, à l'aide du test-avoine de WENT (1), les quantités d'auxine libre présentes dans les régions foliaire et radicale des fragments. Les dosages ont été effectués dans de minces tranches de tissus, prélevés perpendiculairement au grand axe des

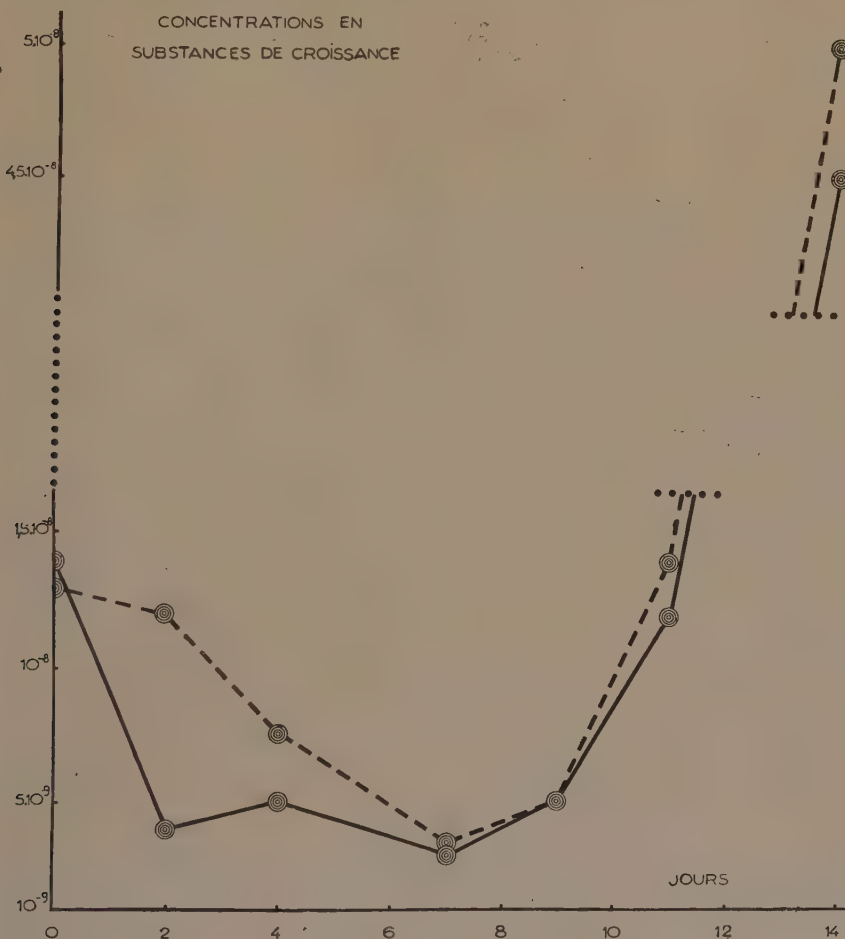


Fig. 83. — Graphique indiquant les quantités d'auxine libre présentes dans les régions foliaire et radicale de fragments de racine d'Endive cultivés in vitro.

Courbe en trait plein : quantités d'auxine présentes dans la région foliaire des explantats.

Courbe en tirets : quantités d'auxine présentes dans la région radicale des explantats.

(1) Les extractions d'auxine ont été effectuées en laissant les tissus frais en contact avec de l'éther pendant 6 heures, à une température moyenne de 3 à 4° C. ; ce mode d'extraction permet d'apprécier les quantités d'auxine libre contenues dans les explantats.

explantats, les unes dans leur région foliaire, les autres dans leur région radicale (fig. 82). D'autre part, nous avons pratiqué des coupes anatomiques dans des fragments identiques à ceux sur lesquels nous effectuions les dosages, de façon à apprécier les relations éventuelles existant entre les concentrations d'auxine mesurées et les modifications anatomiques correspondantes. Le graphique représenté sur la figure 83 schématise l'ensemble de nos résultats.

L'examen de ce graphique montre, qu'au moment de l'ensemencement, les quantités d'auxine contenues dans les tissus au niveau des extrémités foliaire et radicale sont approximativement identiques (1). Par contre, dès le deuxième jour après la mise en culture, on constate que la teneur en substance de croissance dans la région foliaire a diminué de façon considérable, alors que celle de l'extrémité radicale est restée pratiquement constante. Cette première observation suggère que toute l'auxine contenue dans le fragment émigrerait vers les régions basales de celui-ci. Le fait que la teneur radicale n'a pas augmenté laisse supposer, en outre, que cette substance subirait un début d'utilisation ou une destruction progressive. Cette hypothèse se trouve confirmée par les valeurs obtenues au cours des dosages suivants. On voit, en effet, que la quantité de substances de croissance contenue dans la région radicale des explantats diminue régulièrement jusqu'au septième jour après l'ensemencement, alors qu'un cal volumineux se développe sur cette extrémité. A ce moment, ni le cal foliaire très petit, ni le cal radical volumineux, n'ont encore édifié aucun bourgeon.

Par contre, au neuvième jour, les deux courbes révèlent une augmentation, certes très faible, de la teneur en auxine de chacun des deux pôles des explantats, et on constate simultanément sur des coupes anatomiques que quelques ébauches de bourgeons sont apparues dans les tissus. Deux jours plus tard, les fragments en culture ont produit des jeunes bourgeons visibles sur leurs extrémités foliaire et radicale ; les longueurs moyennes de ceux-ci atteignent respectivement sur les deux faces 1 mm. et 0,5 mm. environ. On remarque alors que les quantités d'auxine contenues dans les régions foliaire et radicale des explantats augmentent notablement pour atteindre approximativement les valeurs de départ. Le quatorzième jour, les tiges feuillées apparues dans la région foliaire se sont accrues et mesurent alors 15 mm. L'accroissement des bourgeons radicaux a été beaucoup plus faible (5 mm. environ), ce qui montre que l'inhibition des régions radicales est déjà considérable. Mais, si les quantités de substances de croissance conte-

(1) Ceci n'a rien de surprenant, car une série de dosages préliminaires effectués dans les régions proximale et apicale d'une même racine d'Endive non mutilée, longue de 18 cm. et portant une collerette de feuilles, nous avait donné les chiffres suivants :

région foliaire	$1,2 \times 10^{-8}$
région radicale	$1,5 \times 10^{-8}$

Il est donc normal que l'écart entre les dosages effectués dans des régions distantes de 3 cm. seulement soit encore plus réduit.

nues au niveau des deux pôles de l'explantat ont augmenté de façon très importante, on ne retrouve pas, entre les deux valeurs mesurées, une dissymétrie correspondante à celle qui se manifeste morphologiquement.

En résumé, lors des premiers stades de la culture, l'auxine libre initialement contenue dans les fragments se déplace très rapidement au sein des tissus pour s'accumuler dans la région radicale de ceux-ci. Elle subit alors une destruction, ou une utilisation, liée vraisemblablement à la prolifération des tissus, et qui est révélée par une baisse importante des valeurs des dosages effectués dans la région radicale. Remarquons que c'est pendant les six premiers jours de culture que s'édifie le cal complexe de la région radicale.

A partir du moment de l'apparition des bourgeons, les quantités de substances de croissance augmentent dans les tissus sous-jacents. L'auxine sécrétée par les ébauches en voie de prolifération active se déplaçant très rapidement au sein des explantats, nous n'avons pas pu mettre en évidence un gradient de concentration pour cette substance, dans nos dosages pratiqués à 48 heures d'intervalle. Il aurait fallu, pour apprécier ce gradient, effectuer, non seulement des dosages beaucoup plus rapprochés dans le temps, mais aussi évaluer les quantités d'auxine présentes dans les régions intermédiaires des fragments.

A mesure que les bourgeons se développent en tiges feuillées, on constate que les quantités d'auxine présentes dans les tissus augmentent notablement, tout en restant du même ordre de grandeur pour les deux pôles des explantats, alors que les phénomènes d'antagonisme se manifestent de manière très énergique.

Ces résultats semblent déjà indiquer que l'auxine ne joue aucun rôle dans les corrélations d'inhibition. Mais de plus, nous avons montré qu'un agent inhibiteur préexistant lors de l'ensemencement s'accumulait dans la région radicale des sujets, et freinait le développement des greffons déposés sur cette extrémité dès le sixième jour. Or, on constate que les quantités d'auxine présentes dans les tissus à ce moment sont très faibles, et, surtout, qu'elles sont identiques pour les deux pôles des explantats.

La convergence de ces observations nous permet de confirmer les hypothèses de PREVOT et de GAUTHERET, en montrant que l'auxine libre, aux concentrations où on la décèle normalement dans la plante, ne joue aucun rôle dans les corrélations de croissance entre-bourgeons.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Parvenu au terme de cet exposé, il convient, à présent, de résumer les résultats essentiels de nos observations, de les confronter avec ceux de nos devanciers, et de rechercher, enfin, s'il est possible d'en dégager une idée d'ensemble.

*
* *

Notre travail a débuté par des expériences physiologiques, ayant eu pour but d'étudier le rôle que jouent les bourgeons dans les corrélations d'inhibition et la rhizogénèse. Nous avons tout d'abord analysé le mode de développement de fragments d'organes isolés, en nous inspirant des directives fixées par nos devanciers. Cette analyse a confirmé les idées classiques, selon lesquelles les bourgeons en voie de croissance active exercent une influence inhibitrice sur le développement des autres ébauches. Afin d'approfondir cette question, nous avons ensuite essayé de modifier, grâce à des greffages de bourgeons, le développement normal de fragments de racine d'Endive cultivés *in vitro*. Ces nouvelles expériences nous ont montré que tout se passe comme si les bourgeons sécrétaient un facteur inhibiteur, ne stagnant pas dans les régions où il s'élabore, mais circulant au sein des tissus dans le sens feuille-racine pour s'accumuler dans la région radicale des explantats.

Dans une autre série de recherches, nous avons constaté, comme tant d'autres, que les bourgeons stimulent l'édification des méristèmes radiculaires ; mais nous avons remarqué que l'action réciproque ne se manifeste pas, car, au cours de nos expériences, la présence de racines n'a jamais favorisé le développement des tiges feuillées.

Ces études physiologiques, bien qu'ayant apporté des précisions nouvelles, n'avaient cependant pas fait progresser très sensiblement la question de l'influence morphogène qu'exercent les bourgeons sur le développement végétal. Il nous a donc paru nécessaire d'avoir recours à d'autres moyens d'investigation, et, en particulier, aux méthodes anatomiques. Nous avons, en effet, pensé que celles-ci permettraient de savoir si les facteurs morphogènes vraisemblablement sécrétés par les bourgeons seraient capables de provoquer, au cours de leur conduction dans les tissus, des remaniements histologiques permettant de déceler leur passage.

La première exploitation de cette idée consista à étudier l'évolution des

modifications tissulaires provoquées éventuellement dans les tissus sous-jacents par les bourgeons se développant spontanément sur des fragments de divers végétaux cultivés *in vitro* (Endive, Scorsonère, Crambe, Orme). Elle fut couronnée de succès.

Nous avons, en effet, constaté que des ébauches apparues sur le parenchyme libérien de fragments de racine d'Endive provoquent une différenciation progressive des tissus sous-jacents, bientôt suivie d'une redifférenciation d'éléments conducteurs. Ces modifications s'orientent vers la zone génératrice de l'explantat et se raccordent à elle. Enfin, au-dessous du point de raccord, la zone génératrice prolifère pour donner des éléments cribro-vasculaires. L'ensemble du phénomène est polarisé et ne s'exerce que dans le sens feuille-racine. Lorsque les tissus soumis à l'action des bourgeons sont de nature méristématique (zone génératrice de la racine d'Endive et du rhizome de Crambe, ou régions jeunes du parenchyme vasculaire d'Endive, de Scorsonère, et de Crambe, capables de se différencier spontanément) on observe des modifications moins prononcées, consistant seulement dans une différenciation polarisée d'éléments conducteurs au niveau des cambiums préexistants ou néoformés.

Enfin, lorsque le matériel expérimenté est susceptible de produire des racines *in vitro* (Endive), on observe une continuité cribro-vasculaire entre le bourgeon ayant induit la rhizogénèse et l'endroit d'apparition des racines. A notre connaissance, c'est la première fois qu'une telle démonstration a pu être obtenue. Cette observation explique facilement que les méristèmes radiculaires s'édifient d'autant plus rapidement que les explantats qui les produisent sont plus minces. En effet, les formations cribro-vasculaires induites par un bourgeon dans un explantat de faible épaisseur atteignent l'extrémité radicale de celui-ci beaucoup plus rapidement que dans un fragment plus épais, et, par voie de conséquence, les racines apparaissent plus tôt.

Après avoir mis en évidence les phénomènes d'histogénèse induits par les bourgeons, nous avons essayé d'en préciser certaines conditions. Nous avons ainsi constaté que la lumière n'influence aucunement l'intensité des remaniements tissulaires, ce qui nous a permis d'affirmer que les produits de la photosynthèse ne jouent pas de rôle direct dans les processus d'histogénèse ; nous avons, en outre, démontré que l'influence organisatrice n'est pas exercée par les feuilles développées, mais par les régions méristématiques en voie de multiplication active.

Ces premiers résultats nous ont fait supposer que les bourgeons exerceraient une action histogène, qui doit vraisemblablement faire intervenir un mécanisme humoral. Mais ils n'en ont pas fourni une preuve irréfutable. En effet, on pouvait les interpréter différemment, en imaginant, par exemple, une série d'ondes différenciatrices provenant du tissu préexistant, et aboutissant chacune à un bourgeon. L'influence d'une de ces ondes se traduirait d'abord par l'apparition d'un méristème primaire puis, seulement

après, par des remaniements tissulaires localisés en-dessous de l'ébauche, ce décalage pouvant s'expliquer, par exemple, par une facilité plus grande des tissus à édifier des méristèmes primaires que des éléments conducteurs. L'existence de ce décalage pouvait faire croire à une influence histogène orientée dans le sens feuille-racine, alors qu'il se serait agi d'une onde progressant dans le sens racine-feuille.

Il convenait, par conséquent, d'entreprendre de nouvelles expériences, consistant à greffer des bourgeons sur diverses régions d'explantats fraîchement prélevés, et ne possédant donc encore aucune potentialité marquée. Des essais de ce genre nous ont montré que les bourgeons exercent, à travers la région de soudure, une action histogène sur les sujets. Ils ont donc confirmé les résultats précédemment acquis, mais, en outre, ils nous ont permis d'étudier les réactions de divers tissus incapables de produire des bourgeons, ou même de se modifier spontanément. De cette manière, il a été impossible de créer des phénomènes d'histogénèse sans rapport avec ceux se produisant au cours de l'ontogénèse normale. Nous avons constaté, par exemple, que le parenchyme vasculaire âgé de l'Endive, qui ne se différencie jamais spontanément *in vitro*, présente, sous l'influence des bourgeons greffés, des remaniements histologiques caractérisés par une différenciation progressive suivie d'une redifférenciation anarchique de formations conductrices.

En comparant, à l'aide de ces expériences de greffes, les remaniements du liber à ceux du parenchyme vasculaire, nous avons remarqué que les potentialités de ces deux tissus diffèrent profondément. Le liber, sous l'influence organisatrice des bourgeons, produit des formations cribro-vasculaires affectant l'aspect de cordons fortement organisés, orientés en direction de la zone génératrice. Le parenchyme vasculaire, au contraire, réagit d'une manière anarchique en formant des îlots cribro-vasculaires disséminés dans une plage différenciée. Le manque d'organisation des remaniements que l'on observe dans ce dernier tissu pourrait peut-être provenir de ce que le parenchyme vasculaire possède une structure homogène, tandis que, dans le liber, les cordons libériens assument, à eux seuls, la presque totalité des fonctions de conduction.

Ces observations anatomiques ont également permis d'interpréter certaines singularités des expériences effectuées en vue d'étudier les corrélations d'inhibition ; notamment, elles expliquent le fait qu'à partir du sixième jour suivant le greffage, la croissance d'un bourgeon, déposé sur l'extrémité radicale d'un fragment de racine d'Endive, est fortement inhibée. En effet, cette époque correspond au moment où les formations cribro-vasculaires induites par le greffon se raccordent parfaitement à celles qui s'édifient spontanément dans le cal ; la continuité ainsi établie doit évidemment faciliter l'action du facteur d'inhibition accumulé sur cette extrémité du sujet, ce qui indique, en outre, que l'agent antagoniste ne se déplace qu'au sein des formations conductrices.

Après avoir réalisé ces expériences de greffe, nous avons tenté de démontrer, d'une manière décisive, que les bourgeons agissent par voie humorale. Pour cela, nous avons interposé entre un bourgeon et un fragment de racine d'Endive, un mince film d'une substance perméable, par exemple, de cellophane ou de gélose. Dans les deux cas, nous avons constaté que l'action histogène franchissait la pellicule perméable :

• Lorsque celle-ci était un film de gélose, nous avons remarqué que la zone génératrice des explantats proliférait dans ses régions situées en-dessous de la plaque perméable pour donner naissance à un parenchyme contenant quelques éléments lignifiés. La structure des néoformations produites dans ce cas était identique à celle déterminée par la croissance d'un jeune bourgeon apparu spontanément au niveau du cambium.

Lorsque celle-ci était une feuille de cellophane, nous nous sommes attaché à faire agir des bourgeons sur la région libérienne des explantats, qui ne se modifiait pas au cours de l'expérience précédente. Nous avons alors constaté que les bourgeons induisaient, dans les cordons libériens du sujet, des remaniements histologiques identiques à ceux obtenus sous l'influence de bourgeons néoformés ou normalement greffés.

Ces observations démontraient ainsi, d'une manière irréfutable, la nature humorale de l'action histogène exercée par les bourgeons.

Nous avons alors tenté de caractériser certains facteurs de la morphogénèse et, en premier lieu, de déterminer la nature chimique de l'hormone responsable des remaniements histologiques. La solution complète de ce problème aurait exigé l'extraction, puis l'analyse de cette substance, ce qui supposait de recourir à un test spécifique de substances histogènes, ainsi qu'à des études biochimiques dépassant le cadre de notre travail, et que nous pensons aborder ultérieurement.

Nous nous sommes borné à tenter, d'une manière indirecte, d'avoir quelque idée de la nature possible de cet agent histogène, en comparant les modifications histologiques provoquées par les bourgeons à celles qui apparaissent au cours de la conduction par les tissus d'Endive de diverses substances excito-formatrices synthétiques, agissant à une concentration convenables (10^{-6}).

Ces recherches nous ont amené à établir, parmi les onze produits synthétiques expérimentés, une classification basée sur la structure des néoformations apparues au niveau de la zone génératrice et des cordons libériens. Nous avons constaté que certains composés ne provoquent aucune réaction dans les tissus, tandis que d'autres, agissant au niveau de la zone génératrice, ne déterminent pas de modifications dans les cordons libériens ; ces deux premières catégories de substances ne sont par conséquent pas comparables au facteur normal des processus d'histogénèse, puisque celui-ci agit à la fois sur le cambium et le liber. Certaines autres substances sont capables d'exercer cette double action, mais les remaniements tis-

sulaires qu'elles induisent ont une structure très différente de ceux produits par les bourgeons et il faut donc les éliminer également. Enfin, trois parmi les produits synthétiques étudiés, les acides indole-acétique, indole-butyrique et naphthalène-acétique, induisent au cours de leur transport des remaniements tissulaires présentant, dans l'ensemble, des caractères analogues à ceux qui se produisent dans le cas de la croissance foliaire. Mais un examen encore plus approfondi du détail des structures et de l'orientation de la pénétration, nous a finalement montré que, seuls, les acides indole-acétique et indole-butyrique déterminent des modifications histologiques vraiment identiques à celles que provoquent les bourgeons en pleine activité. Ces résultats nous ont amené à conclure que l'auxine sécrétée par les bourgeons, ou peut-être même l'acide indole-acétique, que l'on a mis en évidence chez de nombreux végétaux, serait le facteur des processus d'histogénèse.

Nous avons ensuite recherché s'il existe une relation entre les quantités d'auxine présentes dans les tissus et l'intensité des phénomènes d'inhibition; les résultats que nous avons obtenus nous ont permis de montrer que, dans l'Endive tout au moins, l'auxine libre ne jouait aucun rôle dans les corrélations d'inhibition.

*
**

Après avoir résumé les résultats de notre travail, nous allons les comparer à ceux de nos devanciers.

Nous envisagerons successivement les phénomènes d'histogénèse, puis les processus de morphogénèse, et nous considérerons, enfin, le mécanisme humoral des phénomènes d'induction.

Nos résultats concernant l'influence exercée par des bourgeons apparus spontanément sur des fragments de tissus de diverses espèces végétales confirment les observations effectuées par TH. HARTIG, DE VRIES, STRASBURGER, etc..., qui ont constaté, eux aussi, que la croissance cambiale est sous la dépendance de l'accroissement foliaire; elles apportent donc un argument supplémentaire à l'encontre des affirmations de R. HARTIG et d'ANTEVS, pour qui les bourgeons ne joueraient aucun rôle dans ce phénomène. Elles confirment, de plus, les recherches anatomiques de JOST, COSTER, SNOW, GOUWENTAK, etc...

Mais dans tous les cas, nous avons ajouté diverses précisions aux faits relatés jusqu'à présent. Nos observations nous ont en effet montré que le pouvoir organisateur des bourgeons est beaucoup plus accentué, et plus complexe, que ne le laissaient supposer les résultats antérieurs. C'est ainsi que les seules actions inductrices observées par nos devanciers étaient des phénomènes de prolifération cambiale, tandis que nos recherches ont établi que les bourgeons peuvent aussi agir sur des tissus déjà différenciés; ces études nous ont permis de constater que cette action se traduit par des

remaniements très profonds, consistant dans une dédifférenciation progressive des tissus, suivie d'une redifférenciation de formations conductrices.

Signalons, en outre, que nos recherches sur la transmission de l'action histogène par greffe confirment les idées de SIMON et de SNOW sur la genèse des zones génératrices, mais en les généralisant ; en effet, tandis que ces auteurs se bornaient à observer la formation de cambiums dans de jeunes plantules, nous avons provoqué l'apparition et la prolifération de zones génératrices dans des tissus à potentialités réduites.

Remarquons enfin que nos observations personnelles sont en accord complet avec les résultats de JOST, COSTER, GOUWENTAK, etc..., selon lesquels les phénomènes induits par les bourgeons sont polarisés dans le sens feuille-racine.

Nous allons envisager maintenant les corrélations d'inhibition entre bourgeons, puis les interactions existant entre la croissance des tiges feuillées et celle des racines.

Nos résultats relatifs aux corrélations d'inhibition confirment les nombreux travaux selon lesquels la transmission de l'influx antagoniste s'effectuerait dans le sens feuille-racine (GEBEL, MAC CALLUM, LEB, THIMANN et SKOOG, WENT, FERMAN, MICHENER, SMITH, etc...). Signalons toutefois que certains chercheurs ont une opinion différente. C'est ainsi que SNOW, expérimentant sur des plantules judicieusement mutilées, a pu montrer que le transport du facteur inhibiteur peut s'effectuer dans n'importe quelle direction. D'autre part, GAUTHERET, qui a travaillé sur le même matériel que celui que nous avons utilisé, l'Endive, estime, conformément à l'opinion générale, que l'influx inhibiteur ne se déplace normalement que dans le sens feuille-racine. Toutefois, après avoir pratiqué des mutilations répétées des bourgeons apparus sur l'extrémité foliaire d'un explantat, tout en laissant s'accroître les ébauches apparues sur l'extrémité opposée (radicale), cet auteur constate que la polarité de l'inhibition peut être forcée.

Nos observations sur l'inhibition provoquée par des bourgeons greffés confirment, dans l'ensemble, les résultats obtenus par GAUTHERET avec des bourgeons néoformés. Mais en greffant des bourgeons très développés sur l'extrémité radicale d'un fragment de racine d'Endive, nous n'avons jamais observé un forçage du mécanisme de transmission polarisée du facteur inhibiteur. Il est vrai que des expériences de greffe ne peuvent être directement comparées à des expériences réalisées sur des bourgeons formés spontanément.

Après avoir considéré la partie de notre travail ayant porté sur les corrélations d'inhibition, nous allons envisager à présent la question des processus de rhizogénèse. On sait que de nombreux travaux ont montré le rôle joué par les bourgeons et les feuilles dans la formation des racines (VAN DER LEK, BOUILLENNE et WENT, COOPER, THIMANN, DELARGE, VAN OVERBEEK, etc.). Ces travaux ont conduit à penser que les méristèmes fo-

liaires sécréteraient un facteur rhizogène spécifique, auquel WENT et BOUILLENNE ont donné le nom de « rhizocaline ».

Nos résultats confirment ceux de nos prédécesseurs, et ils s'accordent en particulier avec les récentes observations de BOUILLENNE sur l'hypocotyle de Balsamine, qui ont permis de penser que la rhizocaline existerait sous une forme mobile et une forme fixée.

Signalons enfin que nos recherches ne concordent pas avec les résultats de WENT, qui a constaté que la présence de la racine est indispensable à la croissance de la tige. L'observation fondamentale sur laquelle il s'appuie consiste à remarquer qu'en enlevant la racine d'une plantule de Pois, la croissance de l'épicotyle cesse aussitôt, pour reprendre si l'on ressoude les deux moignons séparés. De récents travaux effectués par DE ROPP sur le Seigle ont confirmé ces résultats ; toutefois, le phénomène observé par WENT, puis par DE ROPP sur le Seigle, n'est pas général, et DE ROPP lui-même, reprenant cette étude sur le Chou, n'a constaté, dans ce cas, aucune influence des racines néoformées sur la croissance des feuilles isolées. Au cours de nos expériences, nous avons vu que la croissance de bourgeons néoformés par un fragment de tissu d'Endive a présenté les mêmes caractères, que l'explantat ait produit des racines ou non.

Considérons maintenant le mécanisme humoral des phénomènes d'induction.

Nous avons vu, dans l'historique de ce mémoire, que de nombreux travaux conduisent à faire admettre l'existence d'hormones morphogènes dans les végétaux. Certains de ces travaux sont très probants : tel est, par exemple, le cas des recherches de WENT, qui ont démontré que la croissance cellulaire est régie par une hormone, l'auxine. Les résultats que nous avons obtenus ont une signification très différente, car l'hormone que nous avons mise en évidence provoque des phénomènes d'histogénèse. L'existence de cette hormone avait déjà été soupçonnée par SNOW, au moyen d'expériences remarquables consistant à greffer des plantules mutilées, et à faire agir des bourgeons sur un cambium à travers un film perméable. Ces travaux sont très proches des nôtres, mais néanmoins ne sont pas parfaitement concluants ; on pouvait, en effet, reprocher à SNOW de n'avoir étudié que les réactions d'un tissu méristématique, susceptible de proliférer spontanément dans certaines conditions ; on pouvait lui objecter, en outre, d'avoir utilisé de la gélatine comme film perméable, car cette substance peut donner naissance à des produits actifs sur le test-avoine sous l'influence de diastases protéolytiques.

Les faits que nous venons de rappeler sont les seuls ayant vraiment établi l'existence d'hormones morphogènes. Mais de nombreux travaux ont fourni des présomptions plus ou moins fortes en faveur de semblables facteurs : c'est ainsi que différentes recherches ont établi que les bourgeons et les feuilles exercent une action favorisante sur la néoformation des racines, mais on n'a jamais pu démontrer, de manière irréfutable, la nature

humorale de cette influence rhizogène. La question n'est pas claire en ce qui concerne le mécanisme des corrélations d'inhibition. SNOW a montré, sur des plantules de Haricot, que l'action antagoniste exercée par le bourgeon terminal est susceptible de franchir une pellicule d'eau, tandis que PREVOT constate, au contraire, sur le Bégonia, que le facteur des corrélations ne diffuse pas dans la gélose. Nos résultats confirment ceux de PREVOT, car, dans nos recherches, nous n'avons obtenu d'action inhibitrice, par greffe, que lorsqu'une bonne soudure et un raccord des formations cribro-vasculaires étaient réalisés entre le greffon et le sujet. Enfin, l'existence de la substance favorisant la croissance des tiges imaginée par WENT, la caulocaline, est encore beaucoup plus controversée, et nos travaux, en particulier, ne concordent pas avec les observations du savant hollandais.

Ainsi, l'existence de la plupart des substances morphogènes imaginées par nos prédécesseurs n'est pas encore démontrée, et, dans bien des cas, ces hormones ne constituent que de pratiques hypothèses de travail. Nous les discuterons ultérieurement lors de l'examen des diverses théories.

On a attaché, d'autre part, un grand intérêt à connaître la nature de ces facteurs, qui semblent être de nature très différente. Nous avons vu que, pendant longtemps, on a pensé que l'auxine possédait des propriétés multiples, et qu'elle pourrait être à la fois le facteur de l'inhibition, de la rhizogénèse, et de la croissance cambiale. Actuellement, on semble, en général, renoncer partiellement à cette opinion.

Parmi les nombreux essais qui ont été tentés dans le but d'identifier les hormones morphogènes, certains d'entre eux, comme ceux de WENT et de KÖGL pour les auxines en tant que facteurs de croissance, ont été pleinement satisfaisants. Par contre, aucune des tentatives de caractérisation des facteurs de l'inhibition et de la rhizogénèse n'a été couronnée de succès.

Aussi, nous nous sommes penché sur ce problème de la caractérisation des facteurs de la morphogénèse, en considérant plus spécialement les phénomènes d'histogénèse.

Les observations que nous avons réalisées en pratiquant des applications locales de diverses hétéro-auxines concordent avec celles de SNOW, SÖDING, GOUWENTAK et HELLINGA. Mais alors que ces auteurs ne disposaient, pour étayer leurs conclusions, que de la structure des réactions histologiques (bois de printemps et d'automne) apparues au niveau de la zone génératrice des fragments de végétaux traités, nous avons pu, en outre, analyser de façon comparative, des réactions beaucoup plus caractéristiques, comme celles qui se manifestent, par exemple, dans le parenchyme libérien d'Endive sous l'influence de substances excito-formatrices. Nos recherches ont été également beaucoup plus poussées que celles de nos devanciers, par le fait que nous avons expérimenté avec de nombreux produits de synthèse, alors qu'ils ne disposaient que de l'acide indole-acétique.

* *

Après avoir comparé les résultats de nos devanciers à ceux que nous avons obtenus, il convient, à présent, que nous confrontions leurs interprétations avec les faits qui se dégagent de nos propres travaux.

Nous allons envisager rapidement les théories relatives aux corrélations d'inhibition et à la rhizogénèse, puis nous nous attacherons plus particulièrement aux hypothèses concernant le mécanisme de l'action histogène, et la nature du facteur actif dans ce phénomène.

Nous avons vu, dans l'historique de ce mémoire, que les chercheurs ne s'accordent ni sur la nature du facteur antagoniste, ni sur son sens de circulation.

Considérons, tout d'abord, la nature éventuelle de l'agent inhibiteur et les relations pouvant exister entre celui-ci et l'auxine que l'on sait sécrétée par les bourgeons.

Nous ne reviendrons que brièvement sur les diverses théories qui font jouer à l'auxine un rôle plus ou moins direct dans les processus de corrélation. Rappelons simplement que THIMANN et SKOOG estiment que l'auxine est le facteur direct des phénomènes d'inhibition, tandis que SNOW lui fait jouer un rôle indirect. FERMAN, d'autre part, pense que les bourgeons en voie de croissance active attirent de façon privilégiée un hypothétique précurseur d'auxine, tandis que PREVOT et GAUTHERET, sur des bases différentes, dénie à cette substance tout rôle dans les phénomènes d'antagonisme.

Nous avons démontré qu'il n'existe aucun parallélisme entre les phénomènes d'inhibition et la teneur en auxine libre des régions foliaires et radicales de fragments de racine d'Endive ayant bourgeonné. Nous croyons que la netteté de ce résultat apporte une preuve convaincante à l'appui de l'opinion de GAUTHERET et de PREVOT.

Envisageons maintenant la question du sens de transmission de l'influx inhibiteur. Pour expliquer les résultats contradictoires que l'on a obtenus, GAUTHERET suppose que de jeunes ébauches exercent une inhibition polarisée, tandis que les bourgeons très développés seraient capables de forcer le mécanisme de circulation polarisée assurant la conduction des facteurs d'inhibition, et exerceraient une action antagoniste dans tous les sens.

Nous pensons pouvoir proposer une autre hypothèse pour expliquer que la transmission des corrélations d'inhibition puisse être polarisée ou non, selon les cas. Cette hypothèse nous a été suggérée par la comparaison des matériels sur lesquels ont travaillé les chercheurs; on peut, en effet, remarquer :

1° Que tous les auteurs ayant observé une polarité stricte ont opéré sur des tissus secondaires.

2° Que les expériences de SNOW ayant révélé une transmission en tous

sens ont porté sur des plantules possédant une structure primaire, ou dont le cambium commence à peine à fonctionner.

Peut-être, la polarité ne s'installerait-elle vraiment qu'après la formation des tissus secondaires, les formations primaires n'étant que peu ou pas polarisées (1).

Or, les résultats de l'expérience dans laquelle nous avons greffé des bourgeons sur l'extrémité radicale d'un fragment de racine d'Endive peuvent s'expliquer si l'on admet, comme nous venons de le faire, que seuls les tissus secondaires possèdent une polarité.

Ces résultats peuvent, en effet, être interprétés en imaginant qu'au moment de l'ensemencement, les fragments de racine contiendraient une certaine quantité de facteur inhibiteur ; lors des premiers jours de la croissance *in vitro*, ce facteur se déplacerait de façon polarisée au sein des tissus de l'explantat, qui sont de nature secondaire, et s'accumulerait en totalité sur la face radicale de celui-ci. De là, il remonterait dans la pousse feuillée greffée, dont les tissus primaires seraient dépourvus de polarité, et viendrait freiner la croissance de son bourgeon.

Ainsi, cette théorie nous permet d'expliquer nos résultats, mais elle présente une base peu solide, car, s'il est bien établi que les tissus secondaires possèdent une polarité très accusée, il n'est en revanche pas certain que les tissus primaires soient totalement dépourvus de polarité : en effet, les études classiques de WENT, de BOUILLENNE, etc... sur la conduction de l'auxine dans les coléoptiles d'Avoine, sur les tiges de Pois, dans les plantules de Balsamine, établissent que les tissus primaires de ces plantes présentent une faible polarité (2). Nous voyons donc que notre explication est toute provisoire, et que de nouvelles études expérimentales doivent être entreprises.

Nous allons considérer maintenant le problème des interactions existant entre la croissance des bourgeons et celle des racines.

Pour expliquer l'influence favorisante qu'exercent les bourgeons sur la formation des racines, BOUILLENNE et WENT ont imaginé l'existence d'une hormone rhizogène à laquelle ils ont donné le nom de rhizocaline. Plus tard, après la découverte des propriétés rhizogènes des hétéro-auxines, certains chercheurs ont pensé que la rhizocaline n'était autre que l'auxine élaborée par les bourgeons. Toutefois, cette dernière opinion ne permettait pas d'expliquer tous les résultats expérimentaux, et, récemment, BOUILLENNE a proposé une séduisante théorie, basée sur des observations rigoureuses,

(1) Il nous semble intéressant de noter que Mlle SALMON a constaté des différences cytologiques entre les tubes criblés primaires et les tubes criblés secondaires, différences qui retentiraient peut-être sur les phénomènes de polarité, sans qu'on puisse actuellement savoir de quelle manière.

(2) Toutefois, des expériences non publiées de W. P. JACOBS ont montré que la polarité est loin d'être stricte dans de jeunes hypocotyles de *Phaseolus* (d'après THIMANN, 1948).

dans laquelle il imagine que le facteur rhizogène pourrait exister sous une forme mobile et une forme fixée.

Dans les expériences que nous avons effectuées, nous avons vu que le nombre de racines formées à la base de minces fragments de tissu foliaire sous l'influence des bourgeons qu'ils portent, s'accroît régulièrement, puis reste stationnaire.

Cette limitation du nombre des racines nous permet d'écarter l'opinion selon laquelle l'auxine sécrétée par les bourgeons serait le seul facteur rhizogène, car l'arrêt de l'édification des méristèmes radiculaires ne concorde nullement avec un stoppage de la croissance des pousses feuillées, et partant d'une élaboration d'auxine. Nous pensons plutôt, en accord avec la récente théorie de BOUILLENNE, que cette limitation est due au fait que le bourgeon à l'obscurité n'élabore pas de rhizocaline mobile. Le nombre de racines apparues serait simplement fonction de la quantité de rhizocaline fixée contenue dans les tissus, au niveau des formations conductrices du bourgeon sectionnées lors du prélèvement. Le bourgeon se bornerait par conséquent ici, à révéler la rhizocaline fixée par l'intermédiaire de l'auxine qu'il sécrète. On peut, de la même manière, expliquer le fait qu'il ne se forme jamais de racines à la base du bourgeon porté par une lame de tissu radical : dans ce cas, l'auxine, qui n'est pas transportée dans le sens racine-feuille, stagnerait à la base du bourgeon, et, partant, ne pourrait révéler la rhizocaline fixée dans le tissu qui le supporte.

Nous avons observé, d'autre part, au cours de cette même expérience, que les tiges feuillées qui portaient des racines à leur base ne s'accroissaient pas plus rapidement que les bourgeons non « enracinés ». Nous ne pouvons donc souscrire à l'hypothèse de WENT, qui imagine que la racine agirait en libérant une substance spécifique dont le transport serait polarisé dans le sens racine-feuille. Les expériences dans lesquelles la présence de racines facilite le développement des tiges pourraient s'expliquer plus simplement en admettant que les cellules de ces dernières sont trop peu perméables pour pouvoir absorber les éléments nutritifs contenus dans le milieu. La présence de la racine, dont le rôle normal est d'absorber l'eau et les substances dissoutes, serait alors nécessaire pour assurer le développement de l'appareil aérien.

Examinons maintenant les diverses théories proposées par les auteurs pour expliquer le mécanisme de l'influence histogène exercée par les bourgeons, et voyons en quoi nos résultats personnels nous permettent de les discuter.

Nous ne nous attarderons pas sur les travaux disparates effectués avant 1891 par différents chercheurs. Ceux-ci, se basant sur des résultats bien souvent critiquables d'un point de vue purement expérimental, ont proposé des théories aveuglement guidées par l'idée que tout le développement végétal est régi par des migrations d'éléments plastiques. Ces théories n'ont plus qu'un intérêt historique; elles ont déjà été vivement critiquées

par JOST, WIELER, COSTER, et nous avons apporté une nouvelle démonstration du fait que les produits de la photosynthèse n'influencent en rien les phénomènes d'histogénèse. En outre, TH. HARTIG, DE VRIES, R. HARTIG, etc... supposaient qu'il existerait dans le végétal des processus de transport polarisé de substances nutritives, et, en particulier, des glucides, dont le sens de migration aurait été différent pour les différents tissus. Or, BOUILLENNE et WENT, ainsi que GAUTHERET, ont montré que le déplacement des sucres n'est pas polarisé. Nos résultats, en accord avec ceux de JOST, WIELER, COSTER, BOUILLENNE, WENT et GAUTHERET, ne nous permettent par conséquent pas de souscrire aux premières hypothèses proposées pour expliquer le rôle joué par les bourgeons dans le développement cambial.

Examinons maintenant la théorie proposée par Jost en 1891-1893, par LUTZ, ainsi que les hypothèses formulées par GROSSENBACHER, KASTENS et COSTER. Ces chercheurs pensent, soit que les bourgeons et les feuilles en voie de croissance exercent une action stimulante sur le cambium, dont ils ne précisent pas la nature, soit que les méristèmes secrètent un « chemical stimulator », une hormone excito-formatrice. Nos résultats confirment pleinement ces théories, en général très prudentes, basées sur des travaux souvent remarquables, et qui auraient sans doute amené leurs auteurs à des considérations beaucoup plus approfondies, si ceux-ci avaient effectué leurs recherches dix ou vingt ans plus tard, par exemple, après la découverte de l'auxine par WENT.

Cependant, en 1917, au moment où il ne semblait plus y avoir de doute sur les rapports existant entre la croissance foliaire et la prolifération cambiale, ANTEVS tente de remettre tout le problème en question. Tirant en particulier des conclusions du fait que, chez certains arbres, la croissance en épaisseur commence avant le début de la croissance des feuilles, il estime qu'il n'existe aucun rapport intime entre ces deux phénomènes. Ses conclusions, toutes destructrices d'ailleurs, ont déjà été vivement critiquées, mais nos recherches nous permettent d'apporter un nouvel argument contre l'opinion de cet auteur.

Nous avons signalé, en effet, que dès le début de leur édification, bien avant leur apparition à la surface du cal, les ébauches méristématiques sont capables de provoquer des remaniements histologiques. Il est vraisemblable que la croissance en épaisseur, signalée par ANTEVS, en dehors de toute croissance foliaire, est provoquée par une activité méristématique intense des bourgeons avant leur éclatement.

Considérons sommairement la théorie proposée en 1930 par PRIESTLEY. Cet auteur explique la périodicité de la prolifération du cambium par une modification de la structure colloïdale du cytoplasme des cellules cambiales, due à des variations saisonnières de la quantité d'eau contenue dans le bois. D'autre part, il estime, revenant en cela aux théories les plus primitives, que la propagation basipète de la prolifération cambiale est associée à la translocation polarisée de substances organiques au sein du

liber. Nos observations personnelles, ainsi que celles de la plupart de nos devanciers, ne peuvent être expliquées par la théorie proposée par PRIESTLEY.

Enfin, nos résultats confirment les hypothèses de SÖDING, WENT, JOST (1940) et GOUWENTAK, qui dérivent toutes des conceptions de JOST, de COSTER et surtout de SNOW. Ces théories présentent de nombreux points communs. En effet, tous ces auteurs estiment que les bourgeons sécrètent, au cours de leur développement, un facteur humoral déterminant la prolifération des cellules cambiales.

Comparons maintenant nos résultats aux idées de ceux qui ont déjà cherché à caractériser les facteurs des processus d'histogénèse.

Les recherches de SNOW, qui le premier a tenté de déterminer la nature du facteur histogène, l'avaient amené à conclure que la croissance cambiale est activée, soit par la même substance que celle produite par les feuilles (auxine), soit par de l'hétéro-auxine. Ainsi, pour ce savant, l'auxine que l'on sait normalement sécrétée par les bourgeons serait responsable de l'accroissement en épaisseur. Nos résultats confirment cette hypothèse.

A la suite de ces publications de SNOW, plusieurs auteurs (SÖDING, GOUWENTAK, etc...) ont réalisé des expériences analogues, et ils ont formulé sur la nature du facteur histogène élaboré par les bourgeons diverses conceptions que nous allons examiner à présent.

SÖDING admet que l'auxine produite par les bourgeons provoquerait la libération de substances formatrices spécifiques : l'une d'elles conditionnerait la différenciation des vaisseaux, une autre celle des tubes criblés, une autre encore celle des fibres, etc... Son hypothèse s'appuie sur le fait suivant : juste en-dessous d'une décortication annulaire, dans laquelle il a placé un cristal d'hétéro-auxine, le bois formé est aberrant, et la disposition des vaisseaux apparus ne devient graduellement normale qu'à mesure que l'on s'éloigne du point d'application. En conséquence, selon SÖDING, l'hétéro-auxine provoquerait uniquement la division cambiale, mais chaque tissu différencié produirait une substance excitante qui s'écoulerait vers le bas, déterminant la différenciation des cellules situées en-dessous, en vaisseaux, en fibres, etc...

Nous pouvons reprocher à SÖDING, ainsi que l'a déjà fait GOUWENTAK, d'avoir employé des doses considérables d'hétéro-auxine, susceptibles de provoquer des phénomènes très aberrants. En outre, la comparaison des résultats que nous avons obtenus en faisant agir diverses substances excito-formatrices, soit à la concentration de 10^{-6} , soit à très haute concentration (lanoline) ne nous permet pas de confirmer sa théorie. Les variations de structure avec l'éloignement du point d'application seraient dues simplement à un gradient de concentration dans les tissus. De plus, il faudrait admettre que *chaque* tissu différencié est susceptible de sécréter *plusieurs* types de substances différenciatrices, puisque nous avons vu que les parenchymes libérien, vasculaire, ou médullaire, sont également susceptibles de

régénérer, et des tubes criblés, et des vaisseaux, sous l'influence de l'agent histogène, ou de l'acide indole-acétique. Rien dans nos recherches ne montre qu'une substance différenciatrice soit nécessaire à côté de la substance de division. Au contraire, si cette dernière est employée à une dose physiologique, elle est en état de provoquer la formation de vaisseaux bien différenciés et à disposition normale.

Nous pouvons adresser les mêmes critiques à l'hypothèse proposée par JOST en 1940 ; très voisine de celle de SÖDING, cette théorie estime que l'auxine conditionnerait la libération par les tissus de facteurs différenciateurs spécifiques. Toutefois, un point particulier mérite d'être discuté. JOST admet, en effet, que le cambium serait capable de synthétiser l'auxine au même titre que les bourgeons. Pour cela, il s'appuie sur plusieurs arguments, et, entre autres, sur l'observation suivante : étudiant, après 14 jours, la structure d'épicotyles dont les bourgeons ont été éliminés, il remarque que la zone génératrice de ceux-ci a formé quelques vaisseaux, dont le nombre augmente à mesure que l'on se rapproche des régions basales. Si les bourgeons subsistent et se développent, il constate que la formation de vaisseaux est plus importante à la base des boutures que dans leur région foliaire.

Or, nos recherches nous permettent d'expliquer facilement ce phénomène, sans avoir recours à l'hypothèse de JOST. Nous avons vu que l'Endive, la Scorsonère, le Crambe forment spontanément des plages libéroligneuses à structure complexe, accompagnées d'une croissance de la zone génératrice dans la région radicale des explantats au cours de la culture *in vitro*, bien avant que n'apparaissent les bourgeons. La présence de ces néoformations est due, non pas à une sécrétion d'auxine par le cambium, mais à une accumulation dans les régions basales, par suite d'une translocation polarisée de l'auxine contenue initialement dans le fragment. Ceci peut être mis en évidence par les dosages que nous avons effectués ; en effet, nous avons montré que cette substance émigre vers les régions radicales des explantats où elle est utilisée. L'utilisation concorde avec l'édification du cal. S'il n'apparaît pas de bourgeons sur les explantats, et si le milieu ne contient pas d'hétéro-auxine, on constate que l'activité cambiale cesse bientôt, et, avec elle, la formation du cal. Nous pensons qu'il se produit un phénomène analogue dans les plantules utilisées par JOST.

Examinons maintenant l'opinion de WENT sur la nature du facteur histogène, telle qu'elle ressort de sa publication de 1937. Cette théorie fait encore jouer à l'auxine un rôle indirect.

En effet, pour ce savant, l'auxine ne provoque pas la croissance cambiale, mais elle détermine la formation d'un excitant de la prolifération cellulaire, dont elle règle, en outre, le transport polarisé. WENT admet que les processus de division peuvent être attribués à la « sensibilité » ou au fait d'être « en instance de division » de certaines couches de cellules. Les cellules n'ayant pas cette sensibilité ne peuvent être incitées à se divi-

ser, sauf, peut-être, dans le cas où l'on emploie des doses paraphysiologiques d'auxine. Ainsi WENT estime que la division des cellules est le résultat de l'action de différents facteurs dont l'un est l'auxine. S'appuyant sur les résultats de SNOW qui n'a pas observé de remaniements intralibériens à une concentration qui provoque la prolifération cambiale, WENT estime que la distribution de ces facteurs est différente pour les différents tissus. En dehors de ce premier argument, WENT étaye ses conclusions sur les autres faits suivants :

1° La plupart des chercheurs ont travaillé avec des concentrations d'auxine supérieures aux doses physiologiques.

2° Une blessure provoque déjà, à elle seule, la croissance cambiale.

3° SNOW et SÖDING n'ont observé qu'une propagation limitée de la prolifération cambiale en-dessous de la région traitée.

Nos travaux sont à l'abri de ces critiques. En effet, si nos applications d'hétéro-auxine ont été faites en utilisant des doses 2 à 3 fois plus fortes que celles d'auxines décelées dans les bourgeons en voie de croissance, ces quantités n'ont rien d'excessif ; d'ailleurs, nous avons effectué nos extractions en laissant les tissus en contact avec l'éther, et, si nous avions pratiqué, par exemple, une hydrolyse alcaline, il est certain que nous aurions décelé des doses beaucoup plus considérables. De plus, nos examens anatomiques ont été réalisés à une certaine profondeur dans les tissus, à une distance où, par suite du gradient d'auxine qui s'établit, la dose agissante devait être bien plus faible que la dose appliquée.

La deuxième objection présentée par WENT à une théorie auxinique directe ne peut, non plus, s'adresser à nos résultats. En effet, en aucun cas, nous n'avons observé, sur l'extrémité foliaire des fragments que nous utilisons, une formation spontanée d'éléments cribro-vasculaires, ce qui élimine, pour notre matériel tout au moins, l'hypothèse de l'intervention d'une hormone de blessure.

Le fait que SNOW et SÖDING n'ont observé qu'une propagation limitée de l'excitation cambiale a été expliqué en 1941 par GOUWENTAK ; cet auteur a montré que les conditions internes des explantats traités par des substances diverses jouaient un rôle considérable dans la distance à laquelle se manifestait l'activité de la zone génératrice. GOUWENTAK a constaté qu'une application locale d'hétéro-auxine sur des boutures en état de repos hivernal ne provoquait des remaniements cambiaux qu'à une faible distance du point d'application, tandis qu'un traitement identique sur des rameaux prélevés au printemps, ou traités par la chlorhydrine du glycol, déterminait une prolifération sur toute la longueur des fragments.

Enfin, l'argument de WENT, basé sur les résultats de SNOW qui n'a pas observé de remaniements intralibériens et médullaires pour des doses d'auxine activant le cambium, et qui lui permet de postuler une distribution inégale des excitants de la prolifération cellulaire, ne se trouve pas vérifié pour notre matériel. En effet, chez l'Endive, nous avons pu obtenir,

soit lors du bourgeonnement spontané, soit par greffe, soit aussi par l'action de certaines hétéro-auxines, des remaniements histologiques comparables entre eux dans des tissus différents. Par conséquent, nous ne pouvons souscrire à l'opinion de WENT.

Examinons maintenant les suggestions de GOUWENTAK qui, à la suite de recherches sur la croissance cambiale de boutures prélevées sur divers végétaux ligneux, a constaté que l'hétéro-auxine provoque, selon sa concentration, la formation de bois de printemps ou d'automne. Cet auteur estime que l'hétéro-auxine seule est capable de déclencher la prolifération cambiale et que, dans la plante, ce rôle est vraisemblablement rempli par une substance de croissance du groupe des auxines. Les cellules cambiales, douées de polarité, conduiraient vers les régions basales l'auxine provenant des bourgeons, et se multiplieraient activement. Après s'être divisée, chaque cellule devrait recevoir, des régions supérieures, une nouvelle quantité d'hormone avant d'être en état de se diviser à nouveau.

Nos observations, et en particulier, celles que nous avons effectuées sur des explantats portant des bourgeons dans leur région cambiale confirment l'opinion de GOUWENTAK. Mais cette théorie n'explique pas les remaniements tissulaires, et surtout l'orientation de ceux qui se manifestent dans les tissus différenciés, tels que les parenchymes libérien et vasculaire d'organes charnus.

*
* *

Après avoir ainsi discuté les théories de nos prédécesseurs, il convient que nous exposions, à présent, notre conception personnelle du mécanisme de l'action histogène, et de la nature du facteur élaboré par les bourgeons. Malgré la netteté et la constance des observations que nous avons effectuées, nous croyons opportun d'être prudent, même si cette attitude devait nous contraindre à faire certaines réserves sur l'origine de ces processus d'histogénèse.

Nos résultats, confrontés avec ceux de nos devanciers, nous autorisent, tout d'abord, à affirmer que les bourgeons sécrètent un facteur histogène dont le déplacement, au sein des tissus sous-jacents, ne s'effectue que dans le sens feuille-racine.

Les observations que nous avons pratiquées sur des bourgeons apparus, soit dans la région cambiale, soit sur des parenchymes différenciés, nous montrent que l'ancienne théorie de VÖCHTING, qui estimait que la polarité d'un végétal ou d'un tissu n'est que la résultante de la polarité propre de chacune de ses cellules est parfaitement justifiée. En effet, le facteur histogène sécrété par les bourgeons ne diffuse pas dans les tissus puisque nous observons, soit dans le cambium, soit dans le liber, des remaniements histologiques bien localisés. Il semble que ce facteur, aussi bien dans les

cellules cambiales que dans les cellules parenchymateuses plus ou moins différenciées, ne puisse se déplacer que dans le sens feuille-racine.

Les cellules, qui reçoivent des régions supérieures une quantité importante de l'agent élaboré par les régions méristématiques primaires, se divisent activement. Nous pensons qu'une partie de l'hormone agissante est utilisée, ou inactivée, au cours de la multiplication cellulaire et que l'excédent du facteur histogène émigre, pendant la mitose, vers les cellules immédiatement sous-jacentes pour y provoquer alors des phénomènes de prolifération. Suivant la concentration d'hormone présente à un niveau déterminé, on observerait, soit un phénomène de multiplication, soit le même phénomène accompagné d'une différenciation de formations cribro-vasculaires. Cette opinion est basée sur quelques faits qui ressortent de notre travail, et que nous jugeons utile de rappeler brièvement. Nous avons constaté, par exemple, que des substances synthétiques très différentes sont capables de déterminer des phénomènes de différenciation, mais que les éléments formés sous leur influence présentent des structures cytologiques variables, surtout en ce qui concerne les dépôts de lignine. Cette observation suggère déjà que ces composés interviendraient, de manière plus ou moins directe, dans les processus de modification secondaire des membranes. D'autre part, lorsque nous faisons agir sur des tissus d'Endive de l'acide 2,5-diméthylphénoxy-propionique, à des concentrations ne provoquant pas de troubles physiologiques décelables (réactions normales de la zone génératrice), nous avons obtenu, au niveau du liber, la formation de plages méristématiques secondaires très étendues, sans qu'il n'apparaisse aucun élément lignifié (voir p. 156). Ce fait, il est vrai, peut s'interpréter de deux manières : on peut imaginer, tout d'abord, que ce corps inhiberait les phénomènes de différenciation, ce qui est peu vraisemblable, puisqu'en le faisant agir à haute dose, nous avons obtenu la formation d'éléments cribro-vasculaires ; mais on peut penser, d'autre part, que certaines substances sont susceptibles, suivant leur concentration, d'agir sur la multiplication cellulaire seule, ou, en outre, de prendre une part active dans les processus de différenciation, ce qui serait le cas pour le facteur histogène sécrété par les bourgeons. Naturellement, nous savons combien cette théorie présente une base peu solide ; toutefois, nous pensons qu'il conviendrait d'entreprendre des investigations rigoureuses sur ce point, en utilisant, par exemple, la technique de culture des tissus végétaux, qui permet d'étudier les réactions de tissus libérés des corrélations normales.

Signalons qu'une hypothèse voisine a été proposée en 1943 par MEITES, pour expliquer la différenciation cellulaire au voisinage des points végétatifs des racines, mais nous ne pouvons souscrire au détail du mécanisme imaginé par cet auteur, qui n'a pas réalisé d'expériences rigoureuses.

Le fait que les remaniements induits par les bourgeons apparus sur le parenchyme libérien s'orientent vers la zone génératrice peut s'expliquer en supposant que le facteur histogène se déplace de préférence vers les

cellules les plus jeunes, moins différenciées que celles des régions périphériques, et, de ce fait, douées d'une réactivité plus grande. Nous devons donc admettre que les cellules prennent une part active dans la translocation humorale.

Examinons maintenant quelle peut être la nature du facteur histogène élaboré par les bourgeons.

Les expériences que nous avons réalisées avec diverses phytohormones synthétiques nous ont montré que des corps de nature chimique très différente sont capables de provoquer, au sein des tissus, des remaniements comparables, dans l'ensemble, à ceux que provoque la croissance foliaire. Nous pensons qu'en réalité les processus de morphogénèse que l'on observe ainsi expérimentalement n'ont pas de véritable signification physiologique, et représentent de simples modèles des phénomènes qui se déroulent normalement au sein du végétal.

Toutefois, en nous appuyant sur l'ensemble des résultats de nos devanciers, et sur nos recherches personnelles, qui ont montré que l'acide indole-acétique et l'acide indole-butyrique provoquent des modifications identiques à celles que détermine le facteur histogène sécrété par les bourgeons, nous estimons que l'auxine, ou peut-être même l'acide indole-acétique, libéré lors de la croissance des méristèmes, serait responsable des processus d'histogénèse. On a d'ailleurs mis en évidence la présence d'acide indole-acétique chez de nombreux végétaux, et il est vraisemblable que, pour beaucoup d'entre eux, cette substance doit être considérée comme la véritable hormone de croissance.

*
* *

Il nous reste maintenant à regrouper toutes les interprétations que nous avons données des résultats exposés dans ce mémoire, et à examiner dans quelle mesure elles peuvent contribuer à notre connaissance du rôle joué par les bourgeons dans le développement végétal.

Dans les conclusions de son mémoire sur la polarité végétale, GAUTHERET écrivait en 1944 : « Nous estimons donc qu'il existe dans les tissus un ensemble de phytohormones, dont la nature est inconnue et qui, par leur circulation polarisée, provoqueraient la polarité du développement de la plante. Ces phytohormones seraient élaborées par les bourgeons en voie de croissance ; certaines seraient douées de propriétés rhizogènes, d'autres possèderaient la faculté d'inhiber le développement des bourgeons, d'autres enfin seraient capables de déterminer la formation de zones génératrices libéro-ligneuses. »

Les résultats que nous avons obtenus confirment de nombreux points de l'hypothèse de GAUTHERET. En effet, nous sommes amené à conclure de nos recherches que les bourgeons sécrètent au moins un facteur spécifique dont

nous avons démontré l'existence, et, vraisemblablement, deux autres substances hormonales :

1° Un facteur histogène provoquant, avec la prolifération cambiale, une formation d'éléments cribro-vasculaires. Le transport de ce facteur, strictement polarisé, ne s'effectue, au sein du végétal, que dans le sens feuille-racine. Nous pensons que l'on peut identifier cet agent histogène à l'auxine, que l'on sait élaborée normalement par les méristèmes primaires en voie de croissance active.

2° Une substance inhibitrice régissant le développement des bourgeons qui apparaissent dans les régions inférieures de la plante. Le transport de ce deuxième facteur s'effectuerait uniquement par l'intermédiaire du système cribro-vasculaire du végétal. Nous avons, en outre, montré que l'agent des corrélations d'inhibition est totalement différent de l'auxine.

3° Un facteur déterminant la formation des racines. Nous pensons, avec BOUILLENNE, que ce facteur peut exister sous deux états, une forme mobile et une forme fixée. Nos résultats confirment l'existence de ce deuxième état du facteur rhizogène.

*
* *

Ainsi, nos recherches sur les corrélations d'inhibition et la rhizogénèse ont confirmé certaines théories antérieures, mais sans apporter de résultats vraiment originaux, et nous n'avons guère progressé quant à la nature des substances responsables de ces processus.

D'autre part, nous n'avons pu conclure, de manière irréfutable, à une identité absolue entre l'auxine et l'agent des processus d'histogénèse. Une certitude absolue n'aurait pu être obtenue que par des extractions et des fractionnements des composés actifs produits par les bourgeons. Mais, ainsi que nous l'avons déjà mentionné, de telles recherches ne seront possibles qu'après la mise au point d'un test qui permette d'apprécier, avec précision, les quantités de substances excito-formatrices contenues dans un tissu ; ce test pourrait être basé, par exemple, sur le nombre de cellules qui se sont recloisonnées dans un tissu donné, en un temps donné, dans des conditions physiques rigoureusement précisées, sous l'influence d'une certaine concentration d'un composé quelconque. En possession de cette technique, il serait alors possible d'effectuer une étude biochimique approfondie, ou de déterminer avec exactitude, par comparaison quantitative entre les modifications induites par des bourgeons et celles déterminées, soit par de l'auxine naturelle, soit par des produits de synthèse, quelle est la nature chimique du facteur histogène libéré lors de la prolifération intense des méristèmes foliaires.

Il est vraisemblable, en outre, que ce test permettrait d'effectuer de grands progrès dans la connaissance du mécanisme de l'action de nom-

breuses substances excito-formatrices synthétiques, provoquant des processus de différenciation légèrement aberrants. Il est certain que tous les corps que nous avons expérimentés ne peuvent être considérés comme des précurseurs d'auxine. Nous en sommes réduit, actuellement, à supposer qu'ils agiraient en provoquant la libération plus ou moins complète de l'auxine contenue dans les tissus, et que les phénomènes de différenciation anormaux seraient dûs à l'action toxique puissante qu'ils exercent.

RÉSUMÉ

On sait, depuis longtemps, que les bourgeons et les feuilles exercent un rôle fondamental sur le développement de la plante. Les plus récentes théories proposées pour expliquer ces phénomènes de corrélation supposent que les points végétatifs des tiges interviendraient en sécrétant un certain nombre d'hormones morphogènes dont la circulation serait polarisée.

Or, jusqu'à maintenant, on n'a pas pu démontrer de façon certaine l'existence de la plupart de ces facteurs. Nous avons pensé qu'en utilisant la technique de culture des tissus végétaux, il nous serait possible d'aborder le problème de la morphogénèse d'une manière beaucoup plus large qu'on ne l'avait fait jusqu'à présent.

Dans la première partie de notre travail, nous avons effectué des expériences physiologiques ayant pour but d'étudier le rôle que jouent les bourgeons dans les corrélations d'inhibition et la rhizogénèse. Nous avons tenté, tout d'abord, de modifier le développement normal de fragments de racine d'Endive par des greffages de bourgeons *in vitro* ; nous avons constaté que tout se passe comme si les pousses feuillées en voie de croissance active sécrétaient un facteur inhibiteur ne stagnant pas dans les régions où il s'élabore, mais se déplaçant au sein des tissus dans le sens feuille-racine. Cet agent antagoniste n'est pas utilisé au cours de la prolifération des tissus *in vitro* et ne semble pas diffusible.

Une autre série de recherches nous a montré que les bourgeons stimulent l'édification des racines, et nous pensons, avec BOUILLENNE, que ce phénomène est provoqué par un facteur rhizogène qui existerait sous deux formes, l'une mobile et l'autre fixée. Par contre, nous avons remarqué que la présence de racines ne favorise jamais le développement des tiges feuillées, ce qui ne nous permet pas de souscrire à l'existence d'une hormone susceptible de provoquer le développement de la tige.

Ces études physiologiques, bien qu'ayant ajouté des précisions nouvelles aux recherches de nos devanciers, n'avaient cependant pas fait progresser sensiblement la question de l'influence morphogène qu'exercent les bourgeons sur le développement végétal. Il nous a donc paru nécessaire d'avoir

recours à d'autres moyens d'investigations, en particulier aux méthodes anatomiques. Nous avons, en effet, pensé que celles-ci permettraient de savoir si les facteurs morphogènes sécrétés par les points végétatifs seraient capables de provoquer, au cours de leur conduction dans les tissus, des remaniements histologiques qui permettraient peut-être de les déceler. Cette étude anatomique a constitué la deuxième partie de notre travail.

Des observations de ce genre avaient déjà été réalisées, mais concernaient seulement l'action qu'exercent les pousses feuillées sur la prolifération cambiale. L'extension de ces recherches s'imposait donc. En opérant sur divers organes charnus susceptibles de régénérer des bourgeons *in vitro* (Endive, Scorsonère, Crambe), nous avons confirmé le fait que des bourgeons situés au voisinage d'un cambium déterminent une prolifération de celui-ci, à laquelle fait suite une formation progressive d'éléments conducteurs. Ces actions ne s'exercent que dans le sens feuille-racine. Dans le cas de l'Endive, où il apparaît des racines dans la région basale des explantats, on constate, en outre, qu'il existe une liaison cribro-vasculaire entre celles-ci et le bourgeon qui a provoqué leur différenciation. D'autre part, l'étude de l'influence exercée par les bourgeons néoformés sur des fragments isolés de tissu cambial d'Orme nous a donné des résultats analogues, généralisant ainsi nos observations antérieures.

Grâce à divers artifices de technique, nous avons obtenu la néoformation de bourgeons sur des parenchymes, ce qui nous a permis de préciser le mécanisme de cette action histogène. Les recherches effectuées sur le parenchyme libérien d'Endive ont été particulièrement fructueuses ; nous avons constaté que l'influence organisatrice se traduit par une dédifférenciation des tissus, suivie d'une redifférenciation de formations conductrices, l'ensemble de ces phénomènes s'orientant obliquement vers la zone génératrice de l'explantat.

Ces résultats indiquaient que les bourgeons fonctionnent comme des centres d'organisation très actifs ; pour cette raison, nous avons pensé qu'il serait intéressant de les faire agir par greffage sur des tissus fraîchement prélevés. Ces nouveaux essais ont établi que l'influence histogène d'un bourgeon greffé est capable de traverser la région de soudure et qu'il apparaît, dans les tissus du sujet, des remaniements tissulaires identiques à ceux que nous avions décrits précédemment. Par cette technique il nous a même été possible de créer des phénomènes d'histogénèse nouveaux, en pratiquant des greffages sur des tissus incapables de se modifier spontanément (parenchyme vasculaire âgé de la racine d'Endive). Ces expériences nous ont permis d'étudier les différences de potentialités existant entre les différents types de parenchymes.

Toutes ces observations suggéraient évidemment que l'influence histogène des bourgeons devait être due à un processus humoral. Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous avons interposé, entre le greffon et du sujet, un film perméable, constitué, soit par une mince lame de gélose, soit

par un film de cellophane. Dans les deux cas, nous avons observé dans le sujet des modifications histologiques identiques à celles apparaissant normalement. Ce résultat nous a permis d'établir de façon irréfutable, en nous appuyant sur des réactions anatomiques caractéristiques, la nature humorale de l'action organisatrice exercée par les méristèmes caulinaires.

La dernière partie de notre travail a été consacrée à un essai d'identification des facteurs morphogènes sécrétés par les bourgeons.

Nous nous sommes attaché plus particulièrement à l'étude de la nature du facteur histogène que nous avons entreprise d'une manière indirecte. Nous avons comparé les remaniements tissulaires induits par les bourgeons à ceux que provoquent, dans les fragments de racine d'Endive, diverses substances de croissance synthétiques (acide indole-acétique, indole-butyrrique, naphthalène-acétique, naphtoxy-acétique, divers composés de l'acide phénoxy-acétique, etc...). Cette comparaison, basée sur la structure et l'orientation des remaniements induits dans le parenchyme libérien et au niveau de la zone génératrice, nous a permis de penser que les processus d'histogénèse seraient provoqués par l'auxine sécrétée par les bourgeons, ou peut-être même par l'acide indole-acétique que l'on considère à présent comme une véritable hormone.

Enfin, en confrontant les résultats de nos expériences de physiologie à ceux de nos recherches anatomiques, nous avons pu préciser que le facteur des corrélations d'inhibition ne se déplace que dans les formations cribro-vasculaires. Nous avons, en outre, démontré, par une série de dosages rigoureux, que l'auxine libre ne jouait aucun rôle dans les processus d'antagonisme entre bourgeons.

En résumé, nos expériences confirment, en les étendant, les résultats de nos devanciers concernant l'existence d'un facteur rhizogène et d'un facteur inhibiteur sécrétés par les bourgeons. D'autre part, elles démontrent que les bourgeons élaborent une substance diffusible, capable de déterminer à distance des phénomènes d'histogénèse au sein de tissus très différents. Cette substance est vraisemblablement l'auxine.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ANTEVS (E.). — Die Jahresringe der Holzgewächse und die Bedeutung derselben als klimatischer Indikator. *Prog. rei. Bot.* V, 285-386, 1917.
- AVERY (G. S.), BURKHOLDER (P. R.) et CREIGHTON (H. B.). — Production and distribution of growth hormone in shoots of *Aesculus* and *Malus* and its probable role in stimulating cambial activity. *Am. J. Bot.*, 24, 51-58, 1937.
- BEAL (J. M.). — Histological reactions of bean plants to certain of the substituted phenoxy-compounds. *Bot. Gaz.* 107, 200-217, 1945.
- BENECKE et JOST (L.). — Pflanzenphysiologie. Berlin, 1923.
- BLOCH (R.). — Polarity in plants. *Bot. Rev.* 9, 261-310, 1943.
- BONNER (J.) et WILDMAN (S. G.). — Contributions to the study of auxin physiology. *Sixth Growth Symposium*, 51-68, 1947.
- BOUILLENNE (R.). — Congrès international de Botanique d'Amsterdam, 1935.
- BOUILLENNE (R. et M.). — Contribution à l'étude de la néoformation et de la croissance des racines. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* 29, 43-67, 1938.
- BOUILLENNE (R. et M.). — Contribution à la théorie de la rhizocaline. *Lejeunia* 11, 17-36, 1947.
- BOUILLENNE (R. et M.). — Détermination des facteurs de la rhizogénèse. *Bull. Acad. Roy. Belg.* 12, 790-806, 1947.
- BOUILLENNE (R. et M.). — Proposition d'une théorie de la rhizocaline. *Bull. Acad. Roy. Belg.* 12, 870-884, 1947.
- BOUILLENNE (R.) et WENT (F. W.). — Recherches expérimentales sur la néoformation des racines dans les plantules et les boutures de plantes supérieures. *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg.* 43, 25-202, 1933.
- BOYSEN-JENSEN (P.). — La transmission de l'irritation phototropique chez l'*Avena*. *Bull. Acad. Roy. Dan.* I, 3, 1911.
- BROWN (A. B.). — Cambial activity, root habit and sucker shoot development in two species of Poplar. *The New Phytologist*, 32, 288-295, 1935.
- BROWN (A. B.) et CORMACK (R. G. H.). — Stimulation of cambial activity, locally in the region of application and at a distance in relation to a wound by means of heteroauxine. *Canadian J. of Research.* 15, 433-441, 1937.
- BUVAT (R.). — Recherches sur la différenciation des cellules végétales. *Ann. des Sc. Nat. Bot.* II^e série, T. V, et VI, 1944-45.
- BUVAT (R.). — Monographie cytologique des cultures des tissus de Chicorée. *Rev. Cytol. et Cytophys. végét.* 10, 53-80, 1948.
- CAMUS (G.). — Sur le greffage de bourgeons d'Endive sur des fragments de tissus cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.* 137, 184, 1943.
- CAMUS (G.). — Action différenciatrice des bourgeons d'Endive sur les tissus sous-jacents. *C. R. Ac. Sc.* 219, 34-36, 1944.
- CAMUS (G.). — Remarques sur la croissance du tissu cambial d'Orme cultivé en atmosphère confinée. *C. R. Soc. Biol.* 139, 676, 1945.
- CAMUS (G.). — Action différenciatrice des bourgeons se développant sur des fragments de parenchyme vasculaire d'Endive, cultivé *in vitro*. *C. R. Ac. Sc.* 221, 475-76, 1945.

- CAMUS (G.). — Mise en évidence de l'action différenciatrice des bourgeons d'Endive par la méthode des greffes. *C. R. Ac. Sc.* 221, 570-72, 1945.
- CAMUS (G.). — Modifications histologiques provoquées par le greffage de bourgeons sur des fragments isolés de parenchyme vasculaire d'Endive. *C. R. Soc. Biol.* 141, 38, 1947.
- CAMUS (G.). — Modifications histologiques provoquées par les bourgeons se développant sur des prismes de *Crambe maritima*. *C. R. Ac. Sc.* 224, 154-156, 1947.
- CAMUS (G.). — Modifications provoquées par le greffage de bourgeons sur le développement de fragments de racines d'Endive cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.* 141, 389, 1947.
- CAMUS (G.). — Démonstration de la nature humorale de l'action histogène exercée par les bourgeons. *C. R. Ac. Sc.* 226, 1833-1835, 1948.
- CAMUS (G.). — Sur le rôle des bourgeons dans les processus d'histogénèse. *Colloque intern. sur les « Éléments biologiques doués de continuité génétique »*. Paris 1948.
- CAMUS (G.) et KULESCHA (Z.). — Relation entre l'inhibition de la croissance des bourgeons et la teneur en substances de croissance de fragments de racines d'Endive cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.* 142, 320-322, 1948.
- CHALK (L.). — The growth of wood of ash (*Fraxinus excelsior* L. and *F. oxycarpa* Willd.) and Douglas fir (*Pseudotsuga Douglasii* Carr.). *Quarterly Journ. of Forestry*, 1-20, 1927.
- COOPER (W. C.). — Transport of root-forming hormone in woody cuttings. *Plant Physiol.* II, 779-793, 1936.
- COSTER (Ch.). — Zur Anatomie und Physiologie der Zuwachszonen und Jahresringbildung in den Tropen. *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg.* 37, 49-160, 1927 ; 38, 1-114, 1928.
- CZAJA (A.). — Der Nachweis des Wuchsstoffes bei Holzpflanzen. *Ber. d. dtzsch. bot. Ges.* 52, 267-271, 1934.
- DENNY (F. E.) et STANTON (N. E.). — Localisation of response of woody tissues to chemical treatments that break the rest period. *Am. J. Bot.* 15, 337-344, 1928.
- ERRERA (L.). — Conflits de préséance et excitations inhibitoires chez les Végétaux. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* 42, 27-43, 1904.
- FERMAN (J. H.). — The role of auxin in the correlative inhibition of the development of lateral buds and shoots. *Rec. trav. Bot. Neerl.* 35, 177-787, 1938.
- GALSTON (A. W.). — On the physiology of root initiation in excised *Asparagus* stem tips. *Am. J. Bot.* 35, 281-287, 1948.
- GAUTHERET (R. J.). — Recherches sur la culture des tissus végétaux. Essais de culture de quelques tissus méristématiques. *Thèse Sciences*, Paris, 1935.
- GAUTHERET (R. J.). — Caractères anatomiques et cytologiques de tranches d'Endive, Salsifis et Topinambour cultivées *in vitro*. *C. R. Ac. Sc.* 135, 875, 1941.
- GAUTHERET (R. J.). — Recherches sur la croissance de fragments de tissus de quelques végétaux appartenant à la famille des Composées. *C. R. Ac. Sc.* 212, p. 1908, 1941.
- GAUTHERET (R. J.). — Recherches expérimentales sur la polarité des tissus d'Endive. *C. R. Ac. Sc.* 213, 37, 1941.
- GAUTHERET (R. J.). — Manuel technique de culture de tissus végétaux. Masson, éd., Paris, 1942.
- GAUTHERET (R. J.). — Hétéro-auxines et cultures de tissus végétaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 24, 13-47, 1942.
- GAUTHERET (R. J.). — Le bourgeonnement des tissus végétaux en culture. *Sciences*, 40, 95-128, 1942.
- GAUTHERET (R. J.). — Recherches sur le développement de fragments de tissus végétaux cultivés *in vitro*. *Rev. Cytol. et Cytophys. végét.* 6, 85-180, 1943.

- GAUTHERET (R. J.). — Recherches sur la polarité des tissus végétaux. *Rev. Cytol. et Cytophys. végét.* 7, 45-185, 1944.
- GAUTHERET (R. J.). — Sur une méthode histologique permettant de mettre en évidence la circulation polarisée de l'acide indole-acétique. *C. R. Ac. Sc.* 219, 193, 1944.
- GAUTHERET (R. J.). — Une voie nouvelle en Biologie végétale : la culture des tissus. Gallimard, éd., Paris, 1945.
- GAUTHERET (R. J.). — Action des acides 2,4-dichlorophénoxy-acétique et naphthoxy-acétique sur le développement de tissus de Carotte et d'Endive cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.* 141, 475-7, 1947.
- GAUTHERET (R. J.). — Plant tissues culture. *Sixth Growth Symposium*, 21-43, 1947.
- GILL (N.). — The relation of flowering and cambial activity. *The New Phytologist* 32, 1-12, 1933.
- GÖBEL (K.). — Ueber Regeneration im Pflanzenreich. *Biol. Zentrbl.* 22, 385-97, etc..., 1902.
- GÖBEL (K.). — Allgemeine Regenerationsproblem. *Flora* 94, 384-411, 1905.
- GÖBEL (K.). — Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig, 1908.
- GOUWENTAK (C. A.). — Kambiumtätigkeit und Wuchsstoff I. *Meded. v. d. Landbouwhoogeschool*. Wageningen, 40, 3-23, 1936.
- GOUWENTAK (C. A.). — Cambial activity as dependent on the presence of growth hormone and the nonresting condition of stems. *Neder. Akad. van Wetenschappen* 44, 654-663, 1941.
- GOUWENTAK (C. A.) et HELLINGA (G.). — Beobachtungen über Wurzelbildung. *Meded. v. d. Landbouwhoogeschool*. Wageningen, 39, 3-12, 1935.
- GOUWENTAK (C. A.) et MAAS (A. L.). — Kambiumtätigkeit und Wuchsstoff. II *Meded. v. d. Landbouwhoogeschool*. Wageningen, 44, 1940.
- GROSSENBACHER (J. G.). — The periodicity and distribution of radial growth in trees, and their relation to the development of annual rings. *Wisconsin Acad. of Sciences, Arts, and Letters*, 18, 1-77, 1915.
- HABERLANDT (G.). — Zur Physiologie der Zellteilungen. *Ber. d. K. preuss. Ak. d. Wiss.* 318-345, 1913 — 1095-1111, 1914 — 322-348, 721-733, 1919 — 323-338, 1920 — 221-234, 1921.
- HARTIG (R.). — Das Holz der deutschen Nadelwaldbäume, 1885.
- HARTIG (R.). — Das Holz der Rotbuche. Berlin, 1888.
- HARTIG (R.). — Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Pflanzen, 1891.
- HARTIG (R.). — Ueber Dickenwachstum und Jahrringsbildung. *Bot. Zeit.* 50, 176-180, 193-196, 1892.
- HARTIG (Th.). — Ueber die Entwicklung des Jahresrings der Holzpflanzen. *Bot. Zeit.*, 1853.
- HARTIG (Th.). — Ueber die Bewegung des Saftes in den Holzpflanzen. *Bot. Zeit.* 16, 329-335, 337-342, 1858.
- HARTIG (Th.). — Ueber die Bewegung des Saftes in den Holzpflanzen. *Bot. Zeit.* 20, 73-76, 81-87, 97-100, 105-109, 1862.
- HARTIG (Th.). — Folgen der Ringelung an Nadelholz-Asten. *Bot. Zeit.* 21, 286-287, 1863.
- HARTIG (Th.). — Ueber die Zeit des Zuwachses der Baumwurzeln. *Bot. Zeit.* 21, 288-289, 1863.
- HARTIG (Th.). — Anatomie und Physiologie der Holzpflanzen. Berlin, 1878.
- HEMBERG (T.). — Studies on auxins and growth-inhibiting substances in the potato tuber and their significance with regards to its rest-period. *Acta Horti Bergiani*, 14, 133-220, 1947.
- HUBER (B.), SCHMIDT (E.) et JANEL (H.). — Untersuchungen über den Assimilationsstrom. I. *Tharandter Forstl. Jahr.* 88, 1017-1050, 1937.

- JANSE (J. M.). — Polarität und Organbildung bei *Caulerpa prolifera*. *Jahr. f. wiss. Bot.* 42, 394-460, 1906.
- JANSE (J. M.). — Ernährung, Adventivbildung und Polarität. *Flora*, 118-119, 257-288, 1925.
- JONES (W. N.). — Polarity phenomena in Seakale roots. *Ann. of Bot.* 39, 359-72, 1925.
- JOST (L.). — Sur les relations entre la formation de vaisseaux dans le tronc et la formation d'organes sur celui-ci. *Bot. Zeit.* 49, 30-38, 1891.
- JOST (L.). — Ueber Dickenwachsthum und Jahresringbildung. *Bot. Zeit.* 49, 485-495, 501-510, 525-531, 541-547, 557-563, 573-579, 589-596, 605-611, 625-630, 1891.
- JOST (L.). — Beobachtungen über den zeitlichen Verlauf des secundären Dickenwachstums der Bäume. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 10, 587-605, 1892.
- JOST (L.). — Ueber Beziehungen zwischen der Blattentwicklung und der Gefäßbildung in den Pflanzen. *Bot. Zeit.* 51, 89-138, 1893.
- JOST (L.). — Zur Physiologie der Gefäßbildung. *Zeitsch. für Bot.* 35, 114-149, 1940.
- KASTENS (E.). — Beiträge zur Kenntnis der Funktion der Siebröhren. *Mitt. Inst. allg. Bot. Hamburg*, 6, 33-70, 1924.
- KEEBLE (F.). — Plant-Animals. Cambr. Univ. Press, 1910.
- KNUDSON (L.). — Observations on the inception, season and duration of the cambium development in the American larch (*Larix laricina* (du Roi) Koch). *Bull. Torr. Bot. Club*, 40, 271-293, 1913.
- KÖGL (F.). — Ueber Wuchsstoffe der Auxin- und Bios-Gruppe. *Ber. dtsh. chem. Ges.* 68, 16-28, 1933.
- KÖGL (F.), HAAGEN-SMIT (A. J.) et ERXLIEBEN (H.). — Ueber ein neues Auxin (Hetero-Auxin) aus Harn. *Z. Physiol. Chem.*, 228, 90, 1934.
- KRAMER (M.) et WENT (F. W.). — The nature of the auxin in tomato stem tips. *Pl. Physiol.* 24, 207-221, 1949.
- KRAUS (E. J.). — Histological responses of bean plants to 1-tryptophane. *Bot. Gaz.* 102, 602-622, 1944.
- KRAUS (E. J.), BROWN (N. A.) et HAMNER (K. C.). — Histological reactions of bean plants to indole-acetic acid. *Bot. Gaz.* 96, 370-420, 1936.
- KULESCHA (Z.). — Remarques sur l'emploi des trypsines pour l'extraction des substances de croissance contenues dans les tissus végétaux. *C. R. Soc. Biol.* 140, 11-12, 1948.
- KWASNIKOV (B. V.). — La multiplication végétative de la Chicorée, au moyen de la régénération des boutures de la racine (en russe, rés. angl.). *Bull. Ac. Sc. U.R.S.S. Ser. Biol.* II, 333-392, 1937.
- LAIBACH (F.). — Wuchsstoffversuche mit lebenden Orchideenpollinien. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 51, 336, 1933.
- LAIBACH (F.). — Ueber die Auslösung von Kallus und Wurzelbildung durch β -Indolylessigsäure. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 53, 359-364, 1935.
- LAIBACH (F.) et FISCHNICH (O.). — Ueber eine Testmethode zur Prüfung der kallusbildenden Wirkung von Wuchsstoffpasten. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 53, 469, 1935.
- LANGERON (M.). — Précis de microscopie. Masson, éd., Paris, 1946.
- LARSEN (P.). — 3-indoleacetaldehyde as a growth hormone in higher plants. *Dansk. Bot. Arch.* II, 11-132, 1944.
- LE FANU (B.). — Auxin and correlative inhibition. *The New Phytologist.* 35, 205-220, 1936.
- LEK (H. A. A. Van der). — Over de wortelvorming van houtige stekken. *Lab. voor Tuinbouwplantenteelt*, Wageningen, 1, 1-230, 1924.
- LÖEB (J.). — Influence of the leaf upon root formation and geotropic curvature

- in the stem of *Bryophyllum calycinum* and the possibility of a hormone theory of these processes. *Bot. Gaz.* 63, 25-50, 1917.
- LOEB (J.). — Les bases physico-chimiques de la régénération. Paris, 1926.
- LUTZ (K. G.). — Beiträge zur Physiologie des Holzgewächse. *Beitr. z. wiss. Bot.* I. Vergl. *Ber. d. dtsh. bot. Gesell.* 13, 74-79, 1895.
- MAC CALLUM (W.). — Regeneration in plants. *Bot. Gaz.* 40, 97-120 et 241-263, 1905.
- MAGNUS (W.). — Wundkallus und Bacterium tumefaciens. *Ber. d. dtsh. bot. Ges.* 36, 20, 1918.
- MEEHAN (Th.). — On the periody and ratio of the annual increase... *Proceed. of the Acad. of natur. Sc. of Philadelphia*, 292, 1866.
- MEITES (M.). — Sensibilité particulière de la zone de différenciation dans les méristèmes radiculaires de *Lupinus albus* L. et d'*Allium sativum* L. *C. R. Ac. Sc.* 217, 548-550, 1943.
- MICHENER (H. D.). — Dormancy and apical dominance in potato tubers. *Am. J. Bot.* 29, 558-68, 1942.
- MOHL (H. von). — Ueber die Abhängigkeit des Wachstums der dikotylen Bäume in die Dicke von der physiologischen Thätigkeit der Blätter. *Bot. Zeit.* 2, 89-92, 113-116, 1844.
- MONSELISE (S. P.). — On a modification of the oat cylinder test for growth substances used to show the presence of auxin in growing *Citrus* shoots. *Palestine J. Bot.* 5, 106-11, 1945.
- MULLISON (W. R.). — Histological responses of bean plants to tetrahydrofurfural butyrate. *Bot. Gaz.* 102, 373-381, 1940.
- NICKELL (L. G.). — Heteroplastic grafts. *Science*, 108, 389-392, 1948.
- NOEL (R.). — Le facteur cellulaire dans la rhizogénèse. *Lejeunia*, 11, 37-43, 1947.
- NORDLINGER. — Der Holzring als Grundlage des Baumkörpers. Stuttgart, 1878.
- OPPENHEIMER (H. R.). — Cambial wood production in stems of *Pinus halepensis*. *Palestine J. Bot.* 5, 22-51, 1945.
- OVERBEEK (J. Van) et GREGORY (L. E.). — A physiological separation of two factors necessary for the formation of roots on cuttings. *Am. J. Bot.* 32, 336-341, 1945.
- OVERBEEK (J. Van), GREGORY (L. E.), GORDON (S. A.), SANTIAGO DE VAZQUEZ (E. M.) et DAVILA OLIVO (G.). — Plant physiological investigations. *Ann. Rept. Inst. Trop. Agric. Puerto Rico*. 1944-45.
- OVERBEEK (J. Van), GORDON (S. A.) et GREGORY (L. E.). — An analysis of the function of the leaf in the process of root formation in cuttings. *Am. J. Bot.* 33, 100-107, 1946.
- PAAL (A.). — Ueber phototropische Reizleitung. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 58, 406, 1919.
- PREVOT (P. C.). — La néoformation des bourgeons chez les végétaux. *Mém. Soc. Roy. de Liège*, 4^e série, 3, 175-342, 1939.
- PRIESTLEY (J. H.). — Studies in the physiology of cambial activity III. The seasonal activity of cambium. *The New Phytologist*, 29, 316-354, 1930.
- PRIESTLEY (J. H.), SCOTT (L. I.) et MALINS (M. E.). — A new method of studying cambial activity. *Proc. Leeds Phil. and Lit. Soc. Scient. Sect.* 2, 365-374, 1933.
- PRIESTLEY (J. H.), SCOTT (L. I.) et MALINS (M. E.). — Vessel development in the Angiosperms. *Proc. Leeds Phil. and Lit. Soc. Scient. Sect.* 3, 42-54, 1935.
- PRIESTLEY (J. H.) et SWINGLE (C. F.). — Vegetative propagation from the standpoint of plant anatomy. *Tech. Bull.* 151, U. S. Dept. of Agriculture, 1929.
- REHM (S.). — Zur Entwicklungsphysiologie der Gefässe und des trachealen Systems. *Planta*, 26, 255-274, 1937.
- ROPP (R. S. de). — Studies in the physiology of leaf growth I. The effect of

- various factors on the growth of the first leaf of isolated stem tips of Rye. *Ann. Bot.* 9, 369-381, 1945.
- ROPP (R. S. de). — Studies in the physiology of leaf growth II. Growth and structure of the first leaf of Rye when cultivated in isolation or attached to the intact plant. *Ann. Bot.* 10, 31-40, 1946.
- ROPP (R. S. de). — Studies in the physiology of leaf growth III. The influence of the roots on the growth of leaves and stems in Rye. *Ann. Bot.* 10, 353-359, 1946.
- ROPP (R. S. de). — Studies in the physiology of leaf growth IV. The growth and behaviour *in vitro* of dicotyledoneous leaves and leaf fragments. *Ann. Bot.* 11, 439-447, 1947.
- RUSSOW (E.). — Ueber die Entwicklung des Hoftüpfels... *Sitz. Ber. Naturf. Ges. Dorpat.* 6, 109, 1881.
- RUSSOW (E.). — Zur Kenntniss der Holzeshesonderheit des Coniferenholzes. *Bot. Zbl.* 13, 29-40, 60-68, 95-109, 134-144, 166-173, 1883.
- RUSSOW (E.). — Ueber den Inhalt der parenchymatischen Element der Rinde vor und während des Knospenaustriebes und Beginns der Kambiumthätigkeit in Stamm und Wurzel der einheimischen Lignosen. *Sitz. Ber. Naturf. Ges. Dorpat.* 386-388, 1884.
- SACHS (J.). — Stoff und Form der Pflanzenorgane, I-II, *Arb. Bot. Inst. Würzburg*, 2, 452-488, 689-718, 1880-1882.
- SALMON (J.). — Différenciation des tubes criblés chez les Angiospermes. *Thèse Sciences*, Paris, 1946.
- SCHOUTEDEN-WERY (J.). — Quelques expériences de régénération des bourgeons chez les racines de Chicorée. *Rec. de l'Inst. Bot. Leo Errera*, 10, 173-185, 1920.
- SIMON (S.). — Experimentelle Untersuchungen über die Differenzierungsvorgänge im Kallusgewebe von Holzgewächsen. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 45, 351-478, 1908.
- SIMON (S.). — Transplantationsversuche zwischen *Solanum melongena* und *Iresine Lindenii*. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 72, 137, 1930.
- SKOOG (F.), SCHNEIDER (C. L.) et MALAN (P.). — Interaction of auxin in growth and inhibition. *Am. J. Bot.* 29, 568-76, 1942.
- SMITH (P. F.). — Auxin in leaves and its inhibitory effect on bud growth in Guayule. *Am. J. Bot.* 32, 270-6, 1945.
- SNOW (R.). — The correlative inhibition of the growth of axillary buds. *Ann. Bot.* 39, 841-859, 1925.
- SNOW (R.). — The transmission of inhibition through dead stretches of stem. *Ann. Bot.* 43, 261-267, 1929.
- SNOW (R.). — Experiments on growth and inhibition. II. New phenomena of inhibition. *Proc. Roy. Soc.* 108, 305-316, 1931.
- SNOW (R.). — Growth regulators in plants. *The New Phytologist.* 31, 336, 1932.
- SNOW (R.). — The nature of the cambium stimulus. *The New Phytologist.* 32, 288-295, 1933.
- SNOW (R.). — Activation of cambial growth by pure hormones. *The New Phytologist.* 34, 347-360, 1935.
- SNOW (R.). — Activation of cambial growth by pure hormones. *Nature*, 135, 876, 1935.
- SNOW (R.). — On the nature of correlative inhibition. *The New Phytologist.* 36, 283-300, 1937.
- SNOW (R.) et LE FANTU (B.). — Activation of cambial growth. *Nature*, 135, 149, 1935.
- SÖDING (H.). — Hormone und Pflanzenwachstum. *Beih. Bot. Zentrbl.* 49, 469, 1932.
- SÖDING (H.). — Ueber den Einfluss von Wuchsstoff auf das Dickenwachstum der Bäume. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 54, 291-304, 1936.

- SÖDING (H.). — Wuchsstoff und Kambiumtätigkeit der Bäume. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 84, 639-670, 1937.
- SÖDING (H.). — Die Rolle des Auxins in der höheren Pflanze. *Ztschr. f. Bot.* 32, 498-521, 1938.
- SÖDING (H.). — Wuchsstoffbildung und Wuchsstoffverteilung in der Kompositenstande *Heliopsis laevis* im Laufe einer Vegetationsperiode. *Flora.* 32, 425-446, 1938.
- STRASBURGER (E.). — Histologische Beiträge. III. Ueber den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena, 1891.
- SWANSON (C. P.). — Histological responses of the kidney bean to aqueous sprays of 2-4 dichlorophenoxy-acetic acid. *Bot. Gaz.* 107, 522, 531, 1946.
- THIMANN (K. V.). — Studies on the growth hormones of plants VI. The distribution of the growth substance in plant tissues. *Journ. of Gen. Physiol.* 18, 23-34, 1934.
- THIMANN (K. V.). — Plant hormones, in *The hormones*, 1, 6-119, 1948.
- THIMANN (K. V.) et SKOOG (F.). — On the inhibition of bud development and other functions of growth substances in *Vicia faba*. *Proc. Roy. Soc. B.* 114, 317-339, 1934.
- THIMANN (K. V.) et WENT (F. W.). — On the chemical nature of the root-forming hormone. *Proc. kon. Akad. Wetensch. Amsterdam* 37, 456-459, 1934.
- TITTMANN (H.). — Physiologische Untersuchungen über Kallusbildungen an Stecklingen holziger Gewächse. *Jahr. f. wiss. Bot.* 27, 164-195, 1895.
- VÖCHTING (H.). — Ueber Organbildung im Pflanzenreich. Leipzig, 1878.
- VÖCHTING (H.). — *Nachricht der kgl. Gesell. der Wiss. Göttingen.* 278-283, 1902.
- VRIES (H. de). — Ueber Wundholz. *Flora*, 1876.
- VRIES (H. de). — De l'influence de la pression du liber sur la structure des couches ligneuses annuelles. *Arch. Néerl.* XII.
- VRIES (H. de). — Ueber abnorme Entstehung secundärer Gewebe. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 22.
- WENT (F. W.). — Wuchsstoff und Wachstum. *Rec. Trav. Bot. Néerl.* 25, 1-116, 1928.
- WENT (F. W.). — Auxin, the plant growth hormone. *Bot. Rev.* 1, 162-182, 1935.
- WENT (F. W.). — Allgemeine Betrachtungen über das Auxin-Problem. *Biol. Zentr.*, 56, 449-463, 1936.
- WENT (F. W.). — Specific factors other than auxin affecting growth and root formation. *Plant Physiol.* 13, 55-80, 1938.
- WENT (F. W.). — Transplantation experiments with peas I. *Am. J. Bot.* 25, 44-55, 1938.
- WENT (F. W.). — Some experiments on bud growth. *Am. J. Bot.*, 26, 109-117, 1939.
- WENT (F. W.). — Plant Hormones. *Amer. Ass. f. Advancem. Sc.* 14, 147-158, 1939.
- WENT (F. W.). — Transplantation experiments in peas III. *Bot. Gaz.* 104, 460-474, 1943.
- WENT (F. W.) et HAYWARD (H. E.). — Transplantation experiments with peas II. *Bot. Gaz.* 100, 788-801, 1939.
- WENT (F. W.) et THIMANN (K. V.). — Phytohormones. Mac Millan éd., New-York, 1937.
- WHITE (P. R.). — Plant tissue culture. Jaques Cattell Press, Lancaster, 1943.
- WHITE (P. R.). — Plant tissue culture II. *Bot. Rev.* 12, 521-29, 1946.
- WIELER (A.). — Beiträge zur Kenntniss der Jahresringbildung und des Dickenwachstums. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 18-70, 1887.
- WIELER (A.). — Ueber der Anteil des secundären Holzes. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 19, 82-137, 1888.

- WIELER (A.). — Holzbildung auf Kosten des Reservematerials der Pflanzen. *Tharandter Förstl. Jahrb.* 172-245, 1897.
- WIELER (A.). — Ueber die jährliche Periodizität in Dickenwachstum des Holzkörpers der Bäume. *Tharandter Förstl. Jahrb.* 48, 49-139, 1898.
- WILDMAN (S. G.) et BONNER (J.). — Observations on the chemical nature and formation of auxin in the *Avena* coleoptile. *Am. J. Bot.*, 35, 740-46, 1948.
- ZIMMERMAN (P. W.). — The formative influences and comparative effectiveness of various plant hormone-like compounds. *Torreya* 43, 98-115, 1943.
- ZIMMERMAN (P. W.) et HITCHCOCK (A. E.). — Substituted phenoxy- and benzoic-acid growth substances and the relation of structure to physiological activity. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 12, 321-344, 1942.
- ZIMMERMAN (P. W.), HITCHCOCK (A. E.), HARVILL (E. K.). — Xylenoxy-growth substances. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 13, 273-80, 1944.
- ZIMMERMAN (P. W.) et WILCOXON (F.). — Several chemical growth substances, which cause initiation of root and other responses in plants. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 7, 209-229, 1935.
- ZIMMERMANN (W. A.). — Untersuchungen über die räumliche und zeitliche Verteilung des Wuchsstoffes bei Bäume, *Ztschr. f. Bot.* 30, 209-252, 1936.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	
CHAPITRE I	
Principales théories concernant le mécanisme de la polarité végétale.	4
CHAPITRE II	
Rôle des bourgeons dans les processus d'histogénèse.....	13
MATÉRIEL ET TECHNIQUES	
CHAPITRE I	
Techniques générales de mise en culture.....	29
CHAPITRE II	
Techniques de greffage de bourgeons sur des fragments de tissus cultivés <i>in vitro</i>	37
CHAPITRE III	
Techniques histologiques.....	45
CHAPITRE IV	
Techniques diverses.....	47

PREMIÈRE PARTIE

Etude physiologique des actions morphogènes
exercées par les bourgeons.

CHAPITRE I

Rappel des observations classiques effectuées sur le développement de fragments de racines d'Endive cultivés <i>in vitro</i>	52
--	----

CHAPITRE II

Etude des corrélations entre la croissance des bourgeons et celle des racines.....	56
--	----

CHAPITRE III

Etude de l'influence inhibitrice exercée par des bourgeons greffés sur la croissance des bourgeons néoformés.....	59
---	----

DEUXIÈME PARTIE

Mise en évidence de l'action histogène
exercée par les bourgeons.

CHAPITRE I

Etude de l'influence histogène exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de tissus cultivés <i>in vitro</i>	68
---	----

I. — Influence exercée par les bourgeons néoformés sur des tissus présentant une polarité accentuée....	68
---	----

A. — Influence exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de racine d'Endive....	68
---	----

B. — Influence exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de parenchyme vasculaire de racine de Scorsonère....	94
---	----

C. — Influence exercée par des bourgeons néoformés sur des fragments de rhizome de <i>Crambe maritime</i> , comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus.....	101
---	-----

II. — Influence histogène exercée par les bourgeons néoformés sur un tissu présentant une faible polarité (tissu cambial d'Orme)...	111
---	-----

CHAPITRE II

Etude de l'influence histogène exercée par des bourgeons greffés sur des fragments de tissus cultivés <i>in vitro</i>	116
---	-----

I. — Influence histogène exercée par des bourgeons greffés sur des fragments de racine d'Endive.....	117
--	-----

A. — Greffage de bourgeons sur des fragments comportant du liber, du parenchyme vasculaire et la portion de zone génératrice comprise entre ces deux tissus	117
B. — Greffage de bourgeons sur des fragments de parenchyme vasculaire isolé	123
II. — Influence histogène exercée par des bourgeons greffés sur des fragments de tissu cambial d'Orme	127

CHAPITRE III

Recherches diverses sur le mécanisme de l'action histogène des bourgeons.....	129
I. — Rôle des limbes et des méristèmes dans les processus d'histogénèse	129
II. — Démonstration de la nature humorale de l'action histogène exercée par les bourgeons.....	133
A. — Transmission de l'action exercée par les bourgeons à travers une pellicule de gélose.....	134
B. — Transmission de l'action exercée par les bourgeons à travers une pellicule de cellophane.....	137

TROISIÈME PARTIE

**Essais de caractérisation des facteurs morphogènes
sécrétés par les bourgeons.**

CHAPITRE I.

Comparaison entre l'action histogène provoquée par les bourgeons et celle déterminée par des substances connues.....	143
I. — Substances excito-formatrices en solution dans le milieu de culture.....	145
II. — Substances excito-formatrices en solution dans la lanoline.....	157

CHAPITRE II

Relation entre la teneur en auxine des tissus et les phénomènes d'inhibition	162
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.....	166
RÉSUMÉ.....	185
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	188

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

Les hormones de floraison

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 2 avril 1949

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

A. CHATELET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

*Le Recteur de l'Académie
de Paris,*

JEAN SARRAILH.

PIERRE ANDRÉ

Imp. — PARIS

14.066

